



Biochimie structurale : Protéines

Pr. Nadia DAKKA

Année Universitaire 2013-2014

Biochimie structurale

➡ La biochimie structurale étudie, par des méthodes dérivées de la physique et de la chimie:

- la composition chimique précise des molécules biologiques.
- la façon dont ces atomes sont assemblés .
- la structure tridimensionnelle qui en résulte.

La connaissance de la structure d'une molécule , de sa forme dans l'espace et permet de comprendre sa fonction.

➡ L'étude de la structure de ces biomolécules fait appel à des techniques d'analyse comme la cristallographie aux rayons X et à la résonance magnétique nucléaire (RMN)

➡ La biochimie structurale étudie les biomolécules impliquées dans la majorité des processus vitaux :

Protéines, Acides nucléiques, Glucides et Lipides

Les Protéines

Les Objectifs:



- Connaître la **structure** d'un **AA**
- ➡ Reconnaître des **molécules simples** (AA) dans une **structure complexe** (protéine)
- ➡ Mettre en évidence une propriété **physique** ou **chimique**
- ➡ Savoir les différentes **structures protéiques**
- ➡ Décrire les **domaines d'une protéine** qui participent à la **fonction** (relation structure fonction)

Fonctions des protéines

Les **protéines** remplissent des fonction très diverse dans l'organisme :

- ➡ Elles **transportent** d'autres molécules comme l'**hémoglobine** qui transporte l'oxygène des poumons aux organes .
- ➡ Elles jouent le rôle d'**hormone** et transmettent des messages à travers l'organisme, comme l'**insuline** .
- ➡ Elles donnent une **forme** aux cellules comme le **cytosquelette** .
- ➡ Elles permettent aux cellules de se **mouvoir** comme les **flagelles** ou les **spermatozoïdes**.
- ➡ Certaines protéines sont des **catalyseurs** de réactions chimiques , ce sont **les enzymes**.
- ➡ Certaines protéines assurent **l'identité** d'un organisme et **sa défense** : Les **immunoglobulines** qui permettent de reconnaître le soi du non-soi ; elles sont appelées **anticorps**.
- ➡ Elles permettent la **régulation** de la machinerie métabolique : ce sont les **activateurs** ou les **répresseurs**.
- ➡ Les protéines peuvent être **nuisibles** : comme les **toxines**.

Pourquoi les protéines ont-elles une gamme de propriétés aussi étendue?

Les Protéines

→ **Les protéines**: les molécules les plus complexes et les plus variées des êtres vivants. On fabriquerait ~100 000 protéines différentes qui constituent plus de 50% du poids sec des cellules.

→ **Une protéine**, est une **macromolécule** composée par une chaîne d'**acides aminés** liés entre eux par des **liaisons peptidiques**. On parle de protéine lorsque la chaîne contient plus de 100 acides aminés.

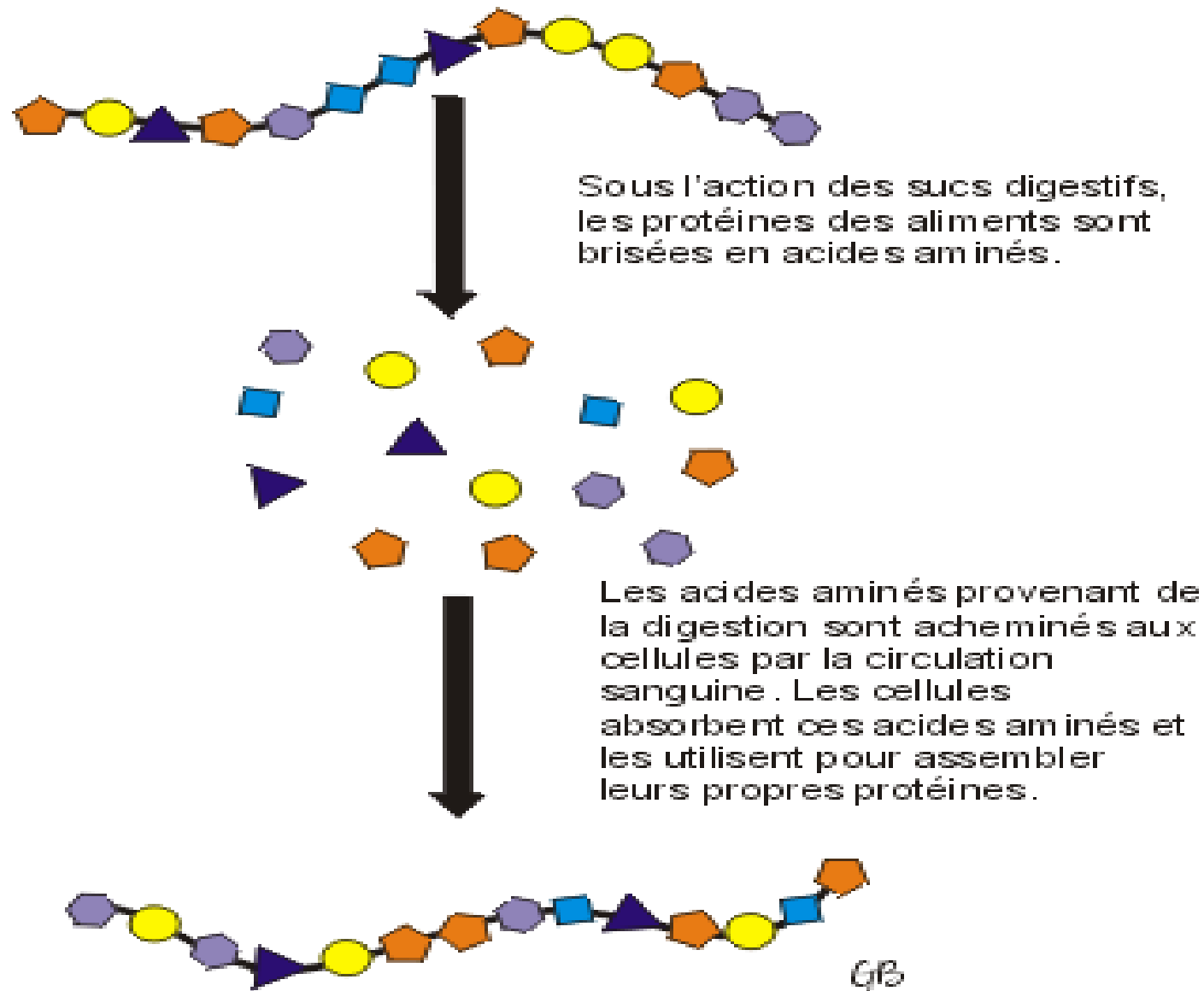
→ Toutes **les protéines** résultent de la combinaison de 20 acides aminés différents. L'enchaînement de ces AA est codé par le **génome**.

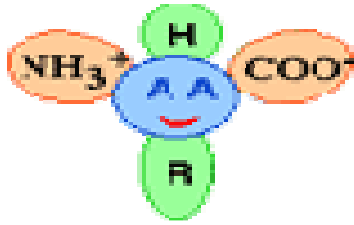
→ **Un acide aminé** est une substance organique avec une fonction amine et une fonction carboxylique.

→ **Un peptide** est formé d'un nombre restreint d'AA (<100)

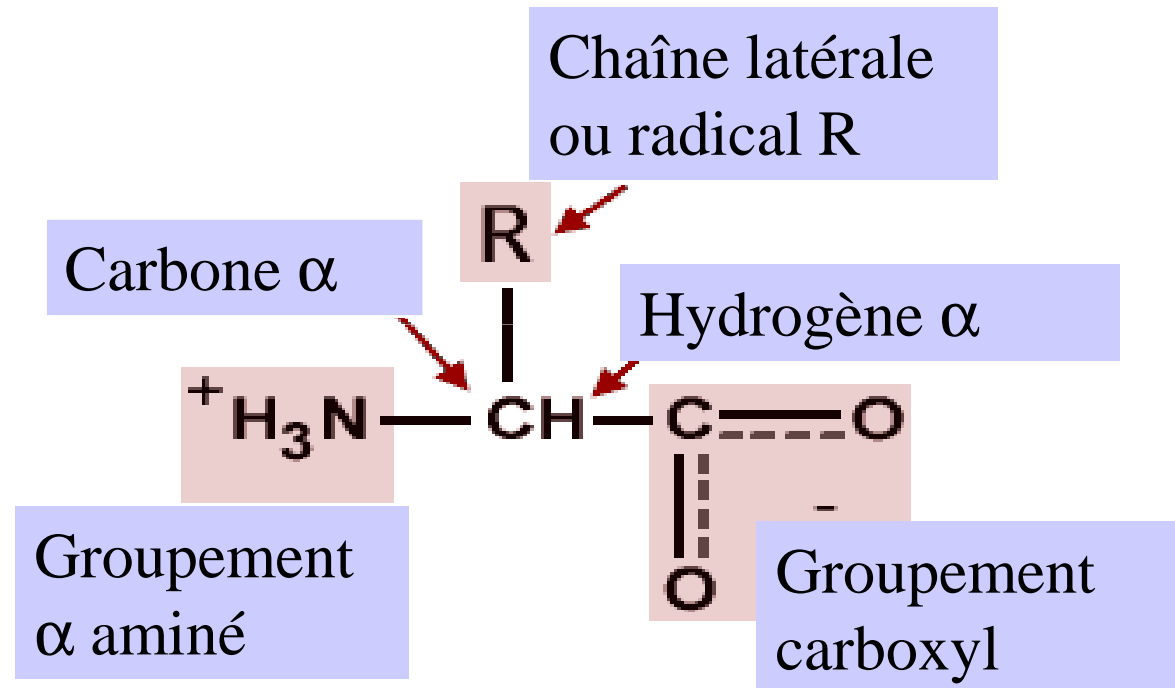
→ **Une protéine** est formée d'un ou de plusieurs peptides.

D'où proviennent les protéines





Structure de base d'un acide aminé



Acide aminé

Code à 3 lettres

Code à une lettre

Alanine

Ala

A

Glycine

Gly

G

Leucine

Leu

L

Proline

Pro

P

Thréonine

Thr

T

Cystéine

Cys

C

Histidine

His

H

Isoleucine

Ile

I

Méthionine

Met

M

Sérine

Ser

S

Valine

Val

V

Acide aminé

Code à 3 lettres

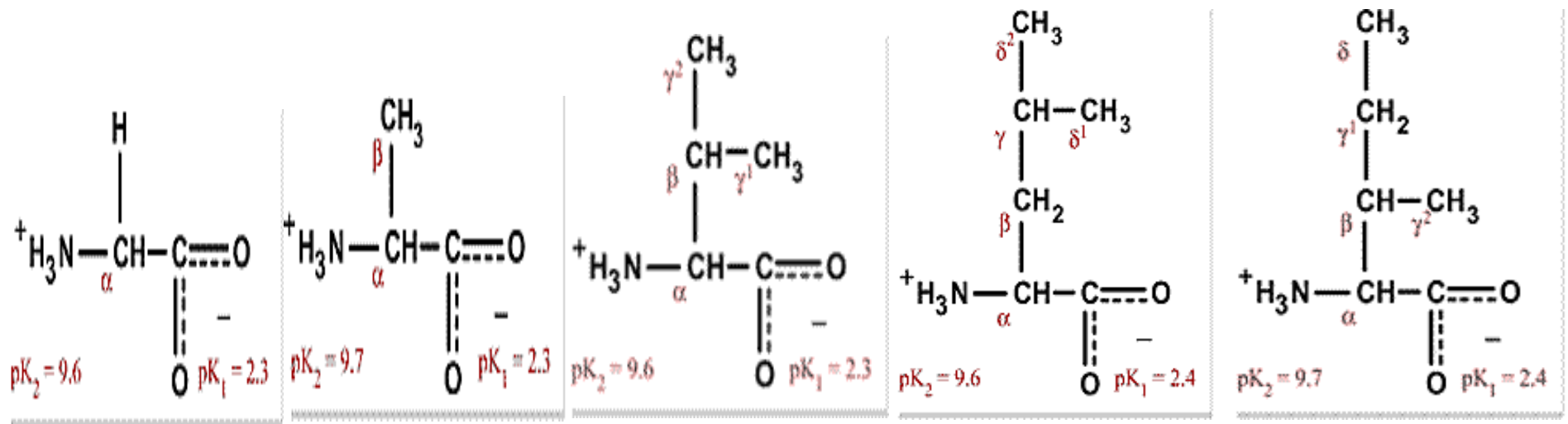
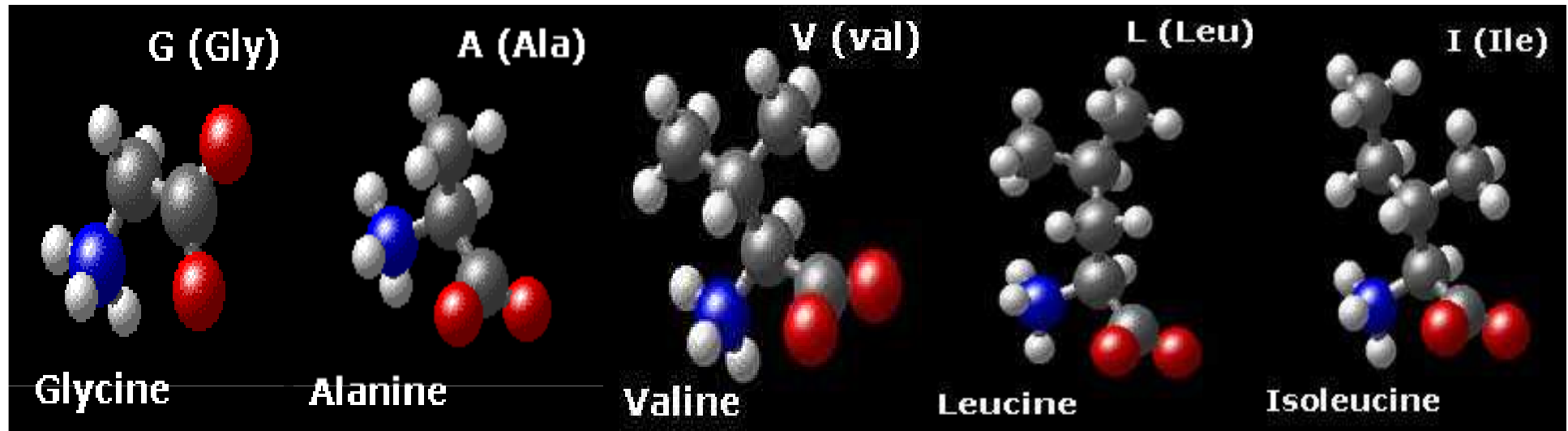
Code à une lettre

Arginine	Arg	R
Phénylalanine	Phe	F
Tyrosine	Tyr	Y
Tryptophane	Trp	W
Asparagine	Asn	N
Acide glutamique	Glu	E
Glutamine	Gln	Q
Lysine	Lys	K
Acide aspartique	Asp	D

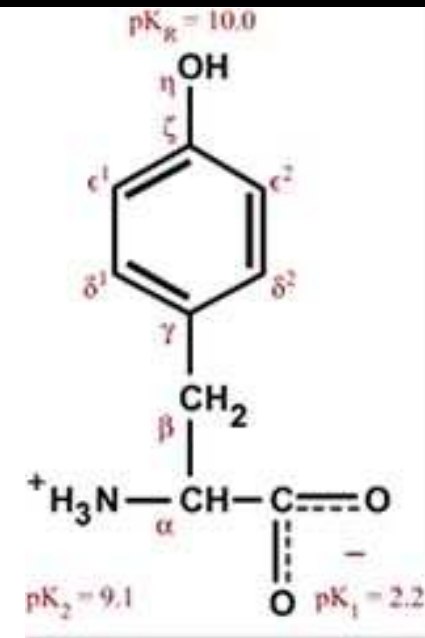
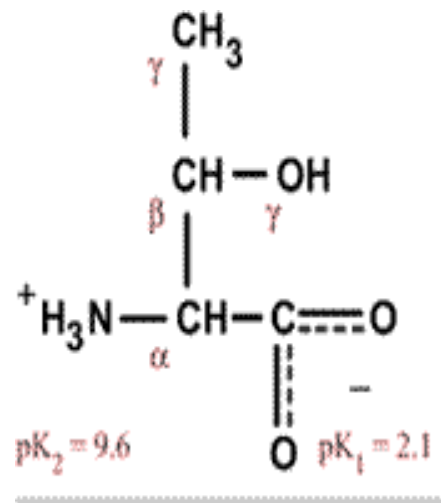
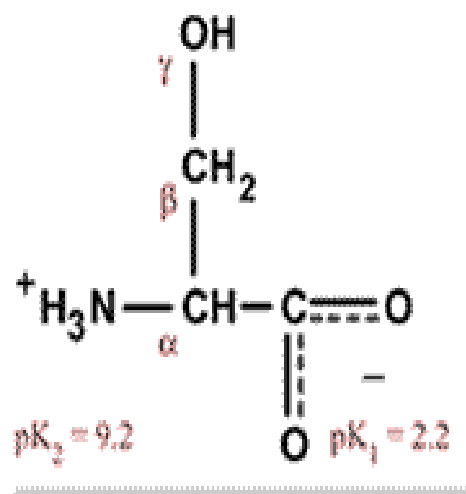
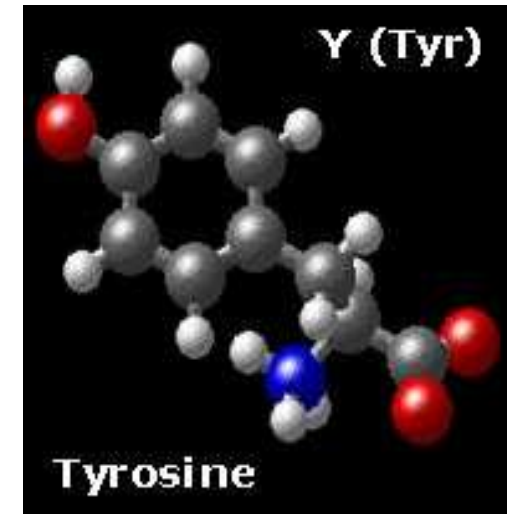
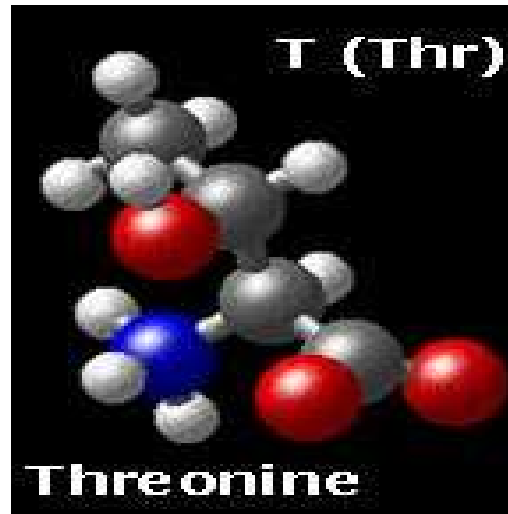
**En plus de 2 AA découverts récemment :
Sélénocystéine (1999) et Pyrrolidine (2002)**

Groupe des acides aminés aliphatiques

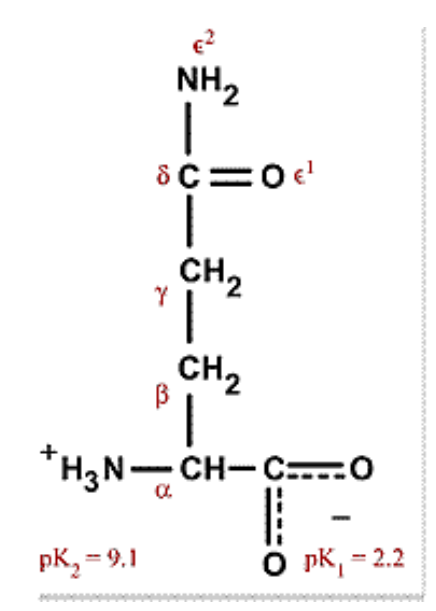
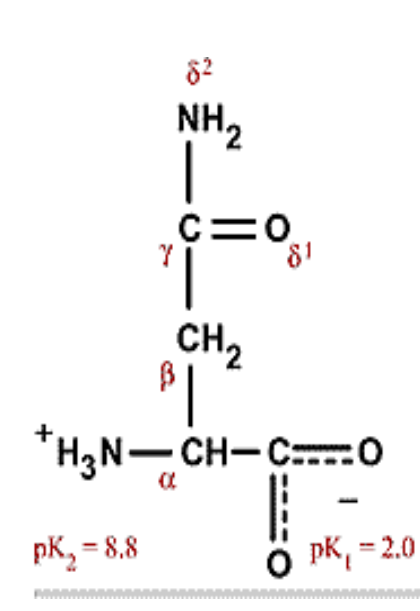
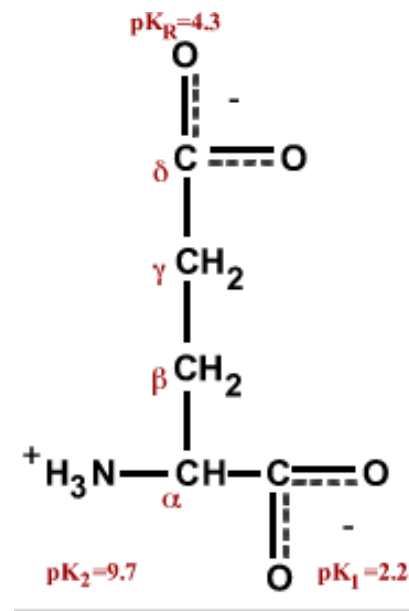
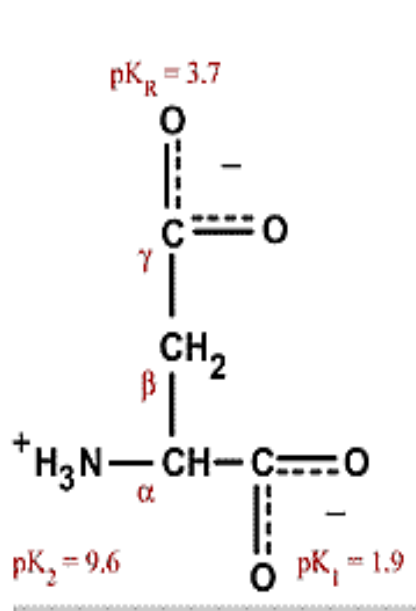
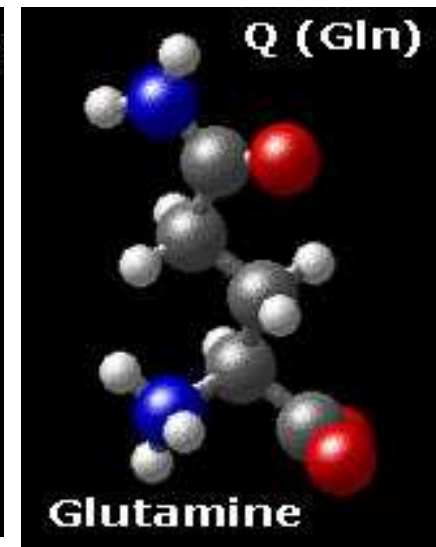
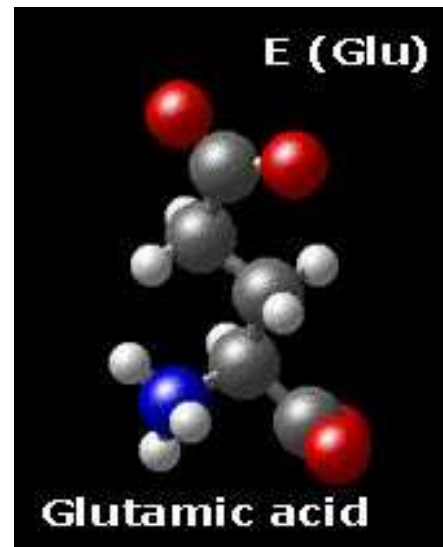
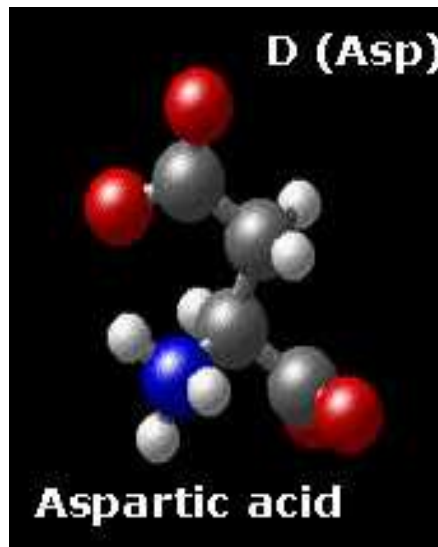
1- AA Neutres



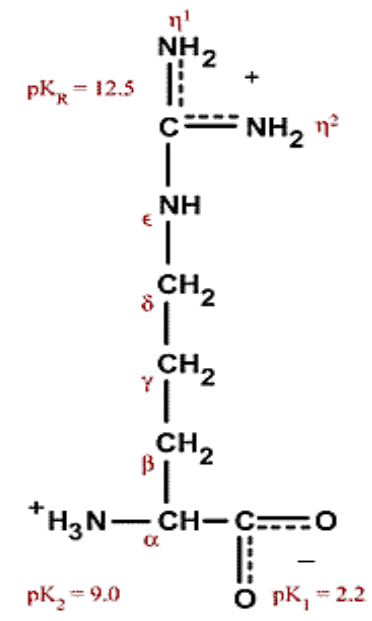
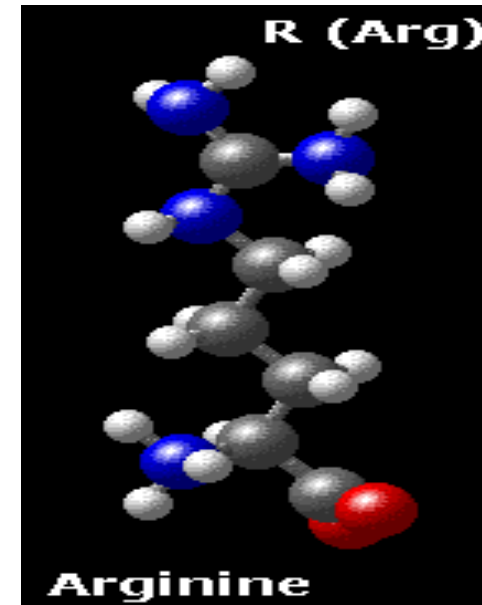
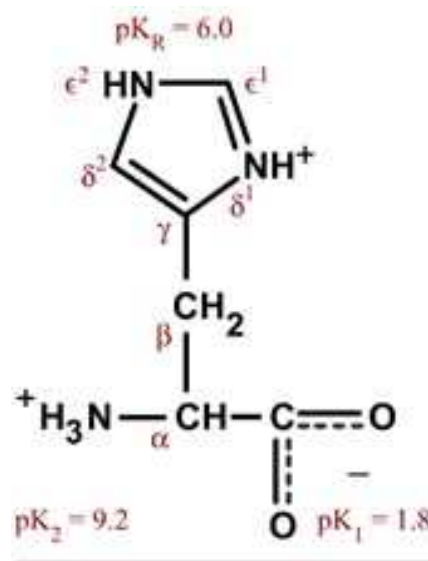
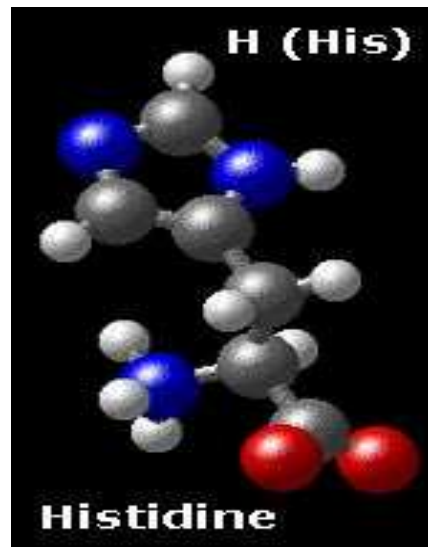
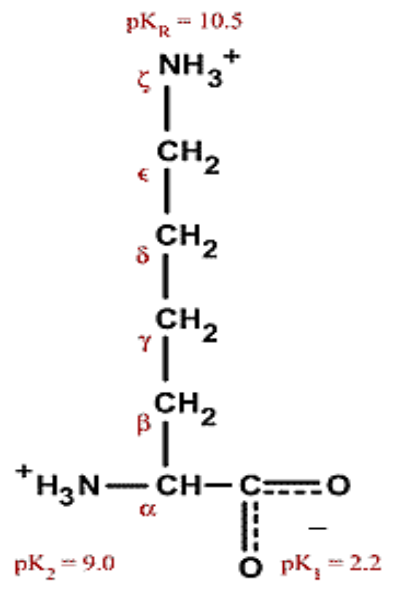
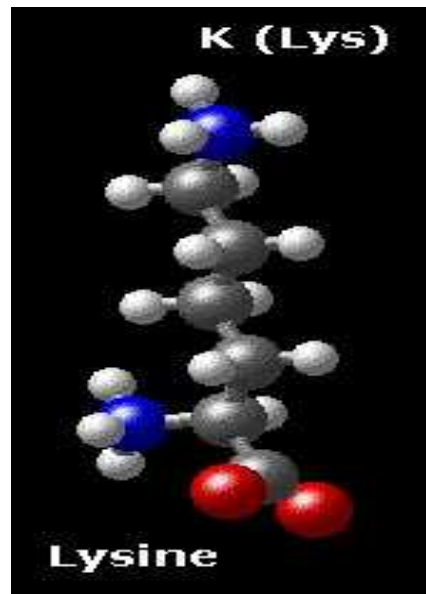
2- AA Hydroxylés



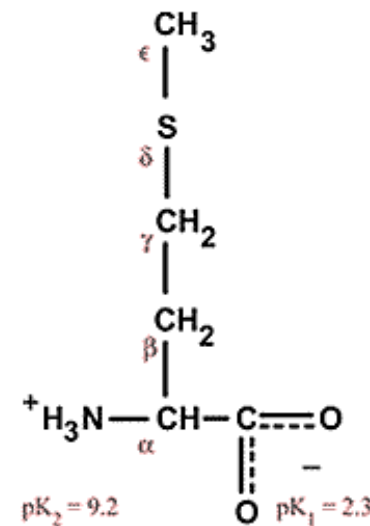
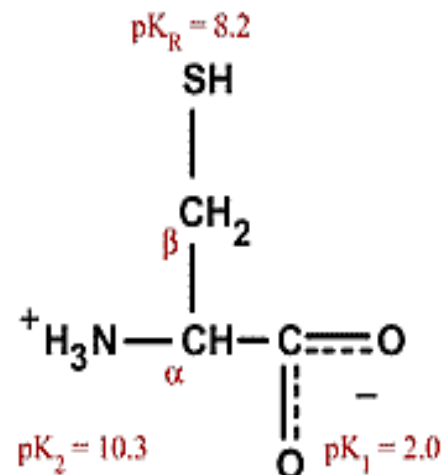
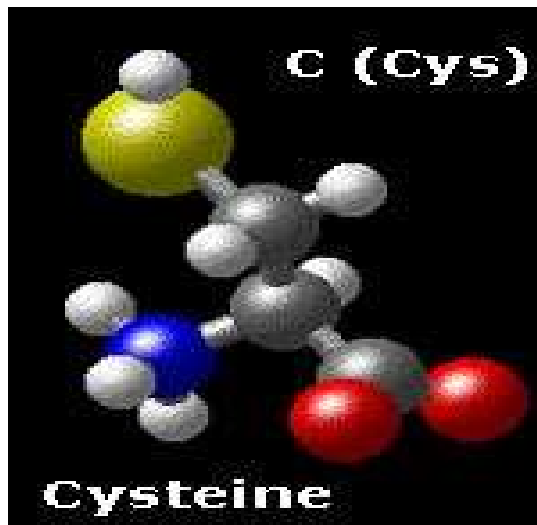
3- AA dicarboxyliques_



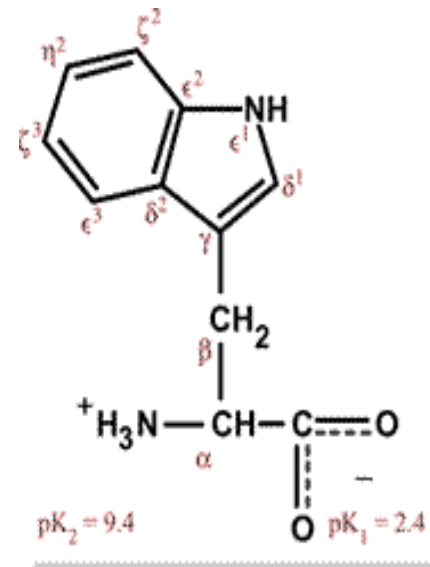
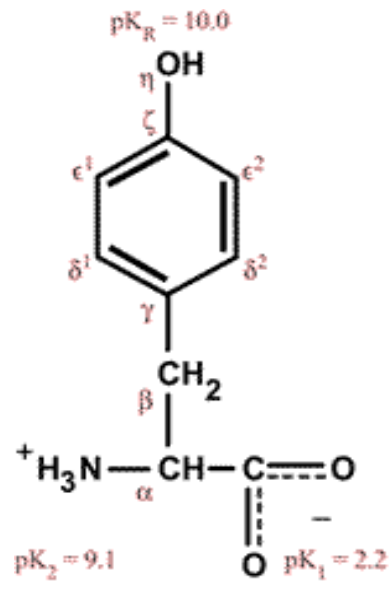
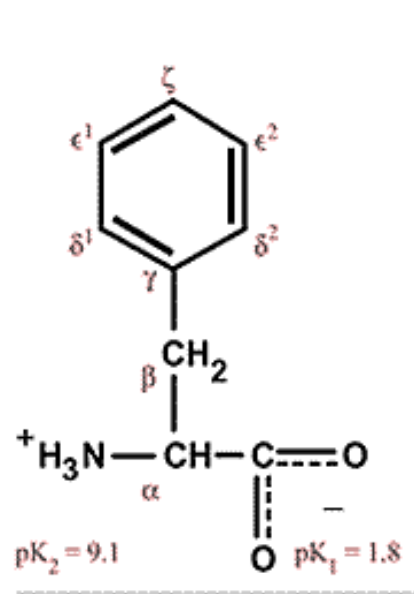
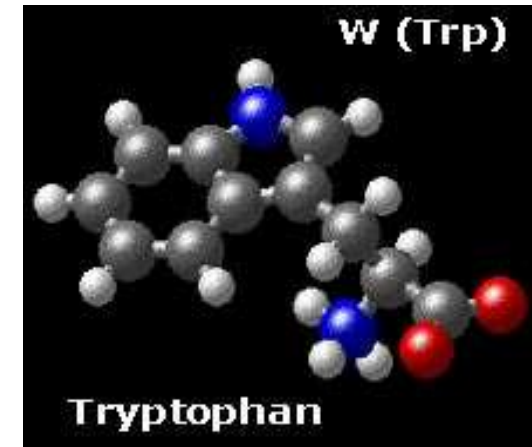
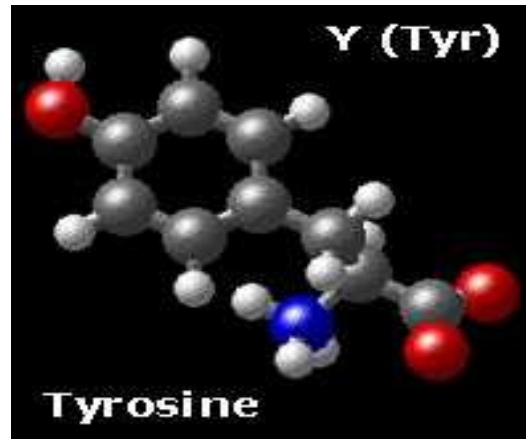
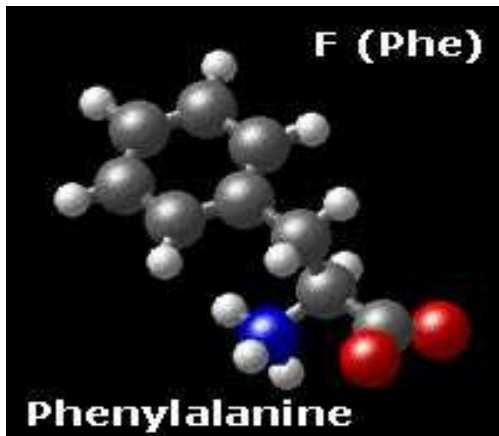
4- AA Basiques



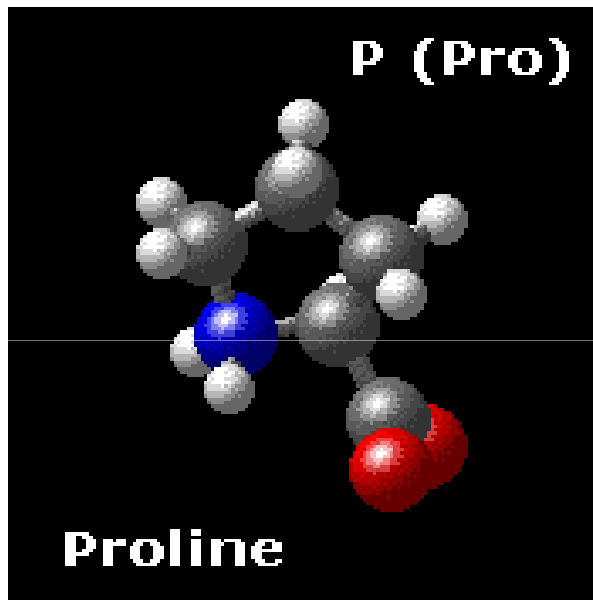
5- AA soufrés



Groupes des AA aromatiques



Groupe des AA à fonction amine secondaire



La Proline et l'Hydroxyproline : AA α -aminés dérivés de la pyrrolidine, solubles dans l'alcool éthylique, la Proline se trouve dans les Prolamines , l'Hydroxyproline dans les collagènes.

Classement des acides aminés

- Acides aminés **simples** : Gly , Ala
- Acides aminés **acides** : Asp , Glu
- Acides aminés **amides** : Asn , Gln
- Acides aminés **basiques** : Arg, Lys, His
- Acides aminés **alcools** : Ser , Thr
- Acides aminés **soufrés** : Cys, Met
- Acides aminés **aliphatiques ramifiés** : Val, Leu, Ile
- Acides aminés **aromatiques** : Phe, Tyr, Trp
- **Amine** secondaire : Pro

Les acides **aminés essentiels** sont : valine, leucine, isoleucine
lysine, méthionine, thréonine, phénylalanine et tryptophane .

Fonctions des acides aminés

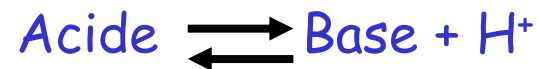
Les **acides aminés** peuvent être les précurseurs de composés spécifiques biologiquement actifs.

- ➡ Participer à **la synthèse** des protéines .
- ➡ Précurseurs des bases purique et pyrimidique (**Aspartate**, **glycine** et **glutamate**)
- ➡ Substrats énergétiques: leur oxydation contribue à 20 % de l'énergie produite par l'organisme.
- ➡ Précurseurs d'hormones et de médiateurs:
 - **Phénylalanine** et **tyrosine** sont les précurseurs des hormones thyroïdiennes et des catécholamines.
 - **Tryptophane** est le précurseur de la sérotonine.
 - **Histidine** est un précurseur de l'histamine.
 - **Glutamate** est un précurseur du GABA (neurotransmetteur).
 - **Arginine** est le précurseur de l'oxyde nitrique radicalaire, responsable de l'activité antitumorale des macrophages.

Ionisation des groupes acide-base des AA

1-Notion d'acide-base

Un **acide** est un **donneur** de **proton**, une **base** est un **accepteur** de **proton**, chaque acide possède une base conjuguée:



Les acides aminés sont des **acides faibles**, ils sont ionisés en solution, Les acides aminés sont appelés **diionique amphotères**. L'ionisation varie avec le pH : il s'établit un équilibre réel entre l'acide et sa base conjuguée.



Notion de pH

On introduit le terme de **pH** pour exprimer la concentration en **ions H^+** très faible des solutions biologiques:

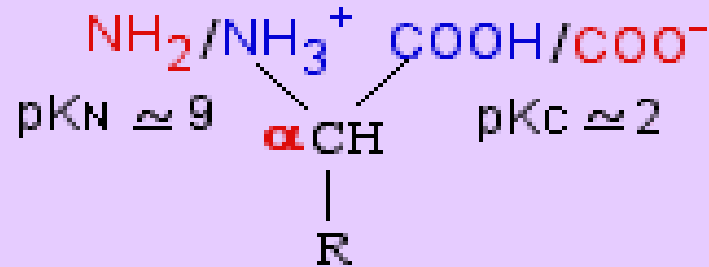
$$pH = -\log [H^+]$$

Pour les acides faibles (AA), le pH de la solution est représenté par l'équation d'Henderson-Hasselbalch

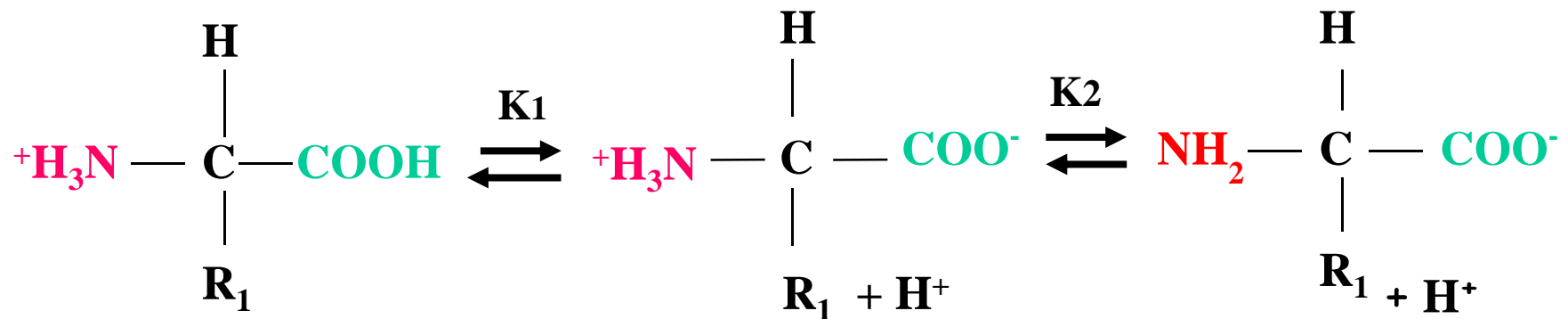
$$pH = pK_a + \log \frac{[A^-]}{[HA]}, \quad \frac{[base]}{[acide]} \frac{[accepteur H^+]}{[donneur H^+]}$$

Le **pKa** mesure la tendance d'un groupement acide à libérer un proton **H^+** , il correspond à la demi dissociation de la fonction acide

Dissociation d'un AA



les acides aminés existent en solution aqueuse, sous 3 formes:



Forme cationique

Forme neutre (Zwitterion)

Forme anionique

milieu acide

point isoélectrique

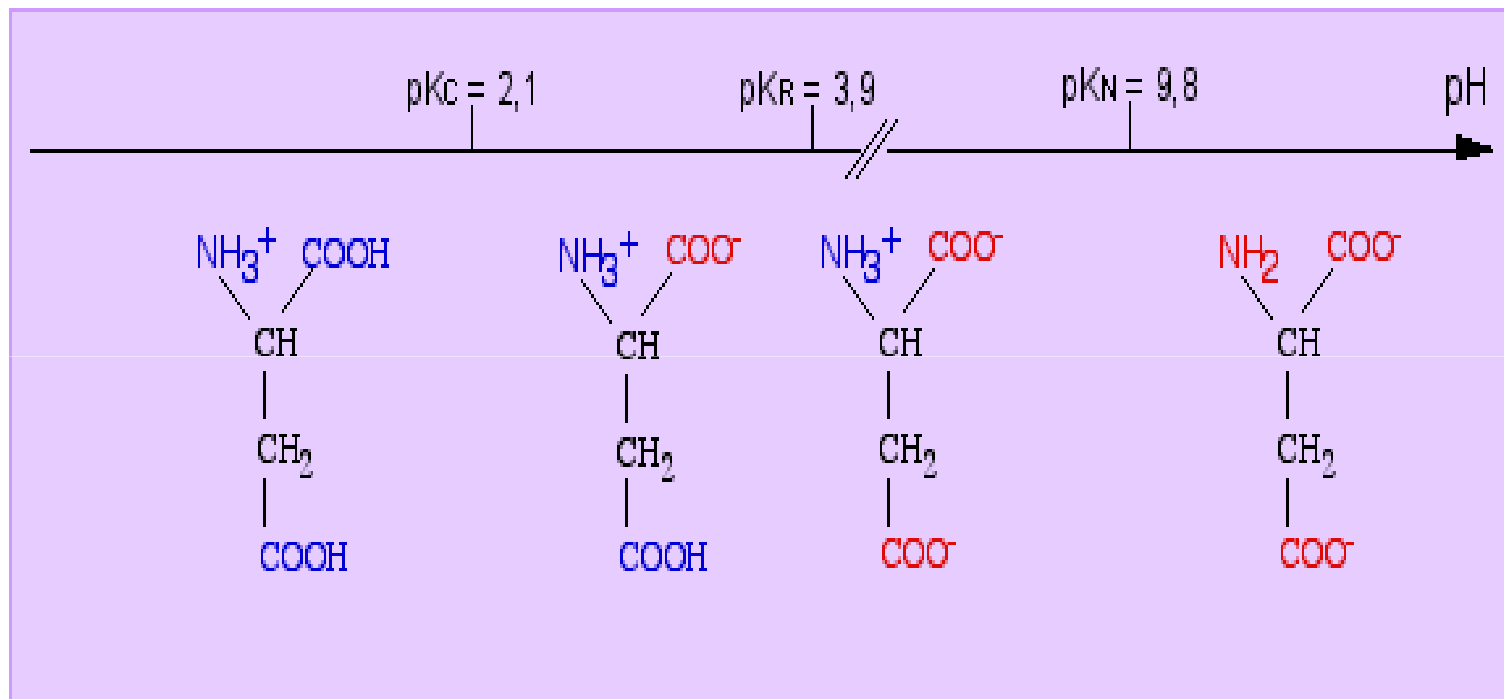
milieu basique

2-Dissociation des chaînes latérales

Dissociation de l'acide aspartique

pH acide

pH basique



Asp⁺

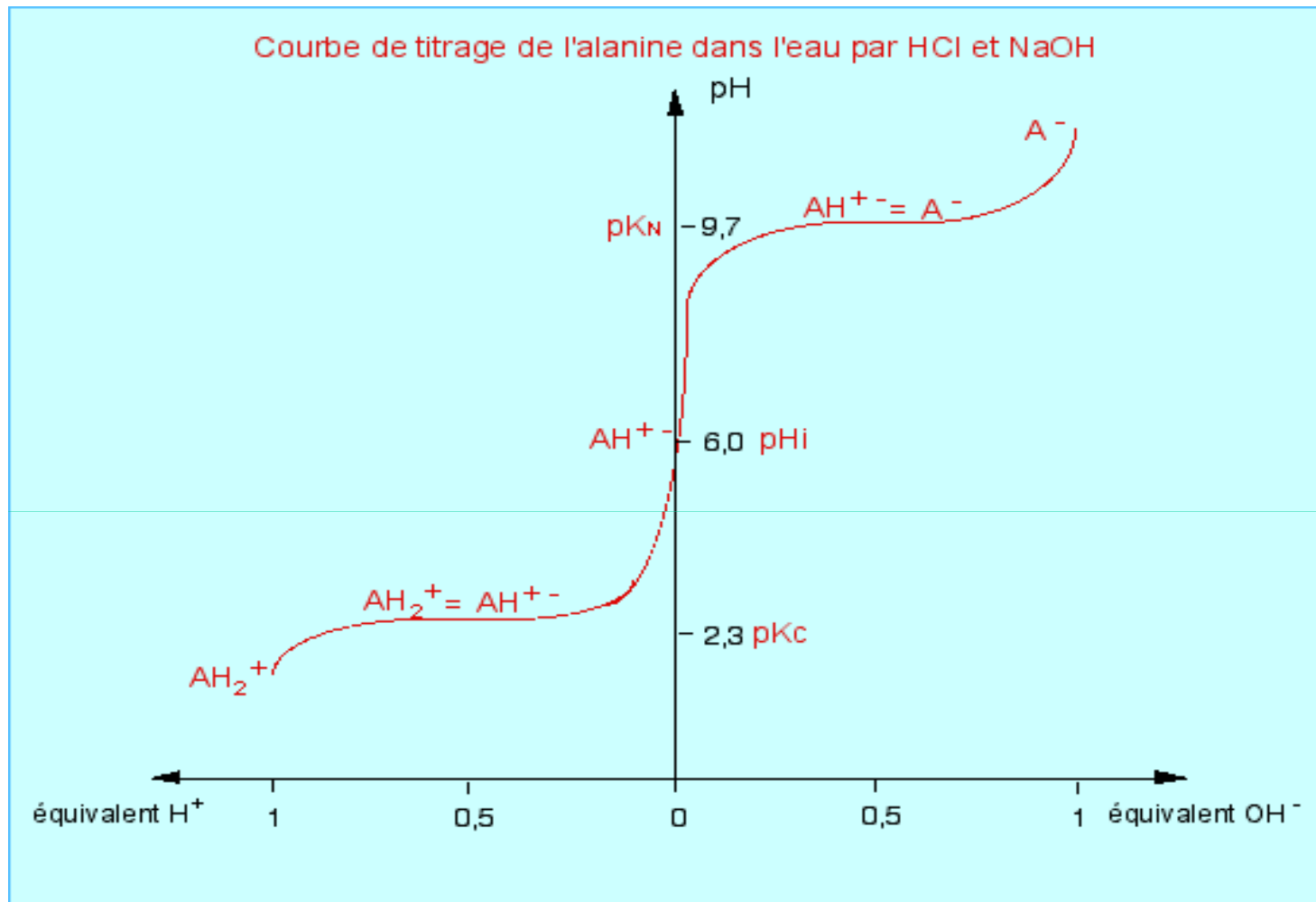
Asp⁺⁻

Asp⁺²⁻

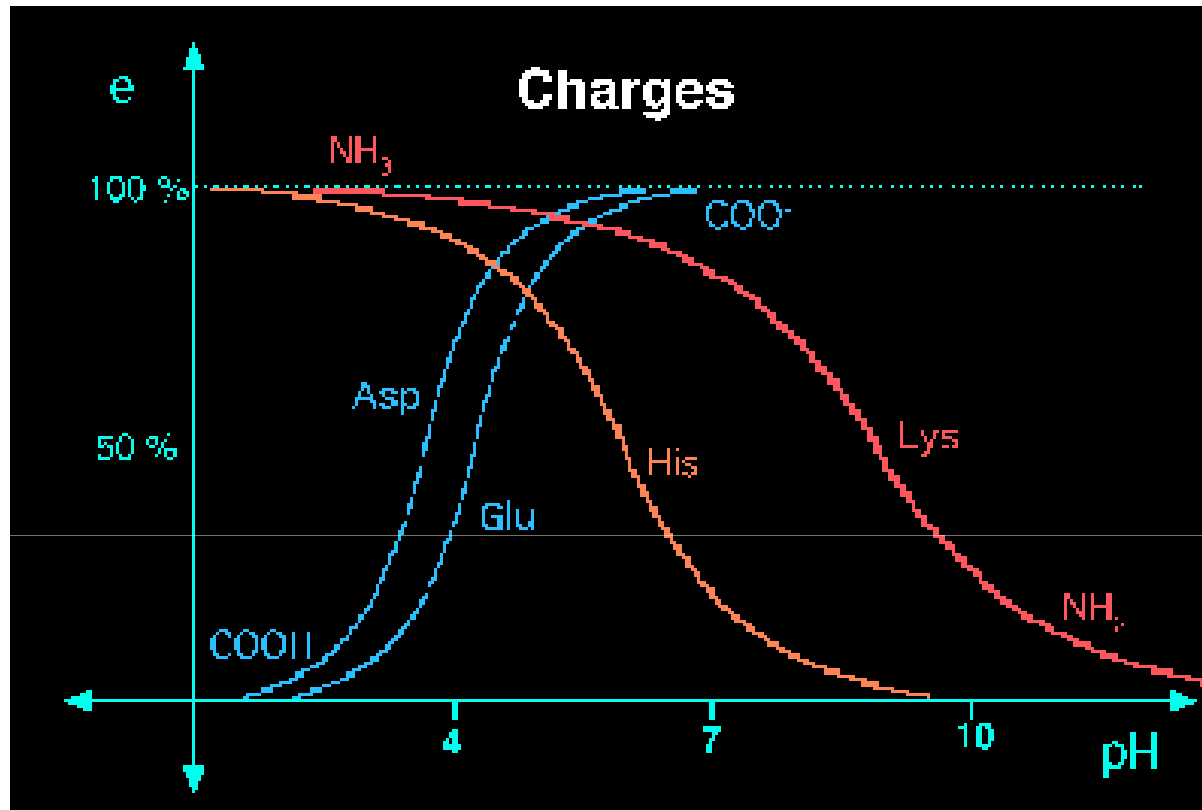
Asp²⁻

Pour chaque AA on calcule le $pH_i = \frac{pK_1 + pK_2}{2}$

3- Courbe de titrage ou Titration



Tracé du pH d'un AA en fonction d'une base forte = courbe de titrage

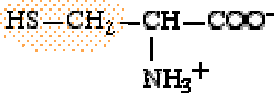
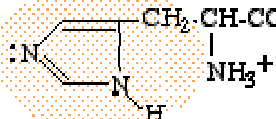
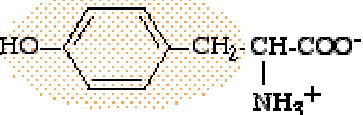

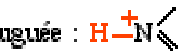



Les fonctions **ionisables** des AA sont d'autant plus protonnées que le milieu est plus riche en **ions H^+** (le **pH** est plus faible).

AA à fonction ionisable anionique

pK _C	pK _N	pK _R	pH _i	pK _C	pK _N	pK _R	pH _i		
$\text{COO}^- - \text{CH}_2 - \underset{\text{NH}_3^+}{\text{CH}} - \text{COO}^-$	2.1	9.8	3.9	3.0	$\text{COO}^- - (\text{CH}_2)_2 - \underset{\text{NH}_3^+}{\text{CH}} - \text{COO}^-$	2.2	9.7	4.3	3.2
acide aspartique ou aspartate (132) Asp (D)				acide glutamique ou glutamate (147) Glu (E)					

AA à fonction ionisable neutre

	pK _C	pK _N	pK _R	pH _i		pK _C	pK _N	pK _R	pH _i
	1.7	10.8	8.3	5.0		1.8	9.2	6.0	7.6
cystéine (121) Cys (C)					histidine (155) Hs (H)				
	2.2	9.1	10.1	5.7	 est la fonction de pK 6; conjuguée : 				
tyrosine (181) Tyr (Y)					 n'est pas une fonction acide-base				

AA à fonction ionisable cationique

pK _C pK _N pK _R pH _i				pK _C pK _N pK _R pH _i			
<div>$\text{NH}_3^+ - (\text{CH}_2)_4 - \underset{\text{NH}_3^+}{\text{CH}} - \text{COO}^-$</div>				<div>$\text{NH} - (\text{CH}_2)_3 - \underset{\text{NH}_3^+}{\text{CH}} - \text{COO}^-$ <div>$\text{C} \begin{array}{l} \diagup \text{NH}_2 \\ \diagdown \text{NH}_2^+ \end{array}$</div></div>			
lysine(147) Lys (K) 2.2 9.0 10.5 9.8				arginine(175) Arg (R) 2.2 9.0 12.5 10.8			
				<div>la fonction guanidine a un seul pK (12.5)</div> <div>$\text{NH} - \text{C} \begin{array}{l} \diagup \\ \diagdown \text{N}^+ - \text{H} \end{array}$</div>			

Chaîne latérale **polaire** sans fonction ionisable

	pK _C	pK _N	pK _R	pH _i		pK _C	pK _N	pK _R	pH _i
$\begin{array}{c} \text{HO}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$	2.2	9.2		5.7	$\begin{array}{c} \text{NH}_2-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$	2.0	8.8		5.4
sérine (105) Ser (S)					asparagine (132) Asn (N)				
$\begin{array}{c} \text{CH}_3-\text{CH}-\text{CH}-\text{COO}^- \\ \quad \\ \text{HO} \quad \text{NH}_3^+ \end{array}$	2.6	10.4		6.5	$\begin{array}{c} \text{NH}_2-\text{CO}-(\text{CH}_2)_2-\text{CH}-\text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$	2.2	9.1		5.7
thréonine (119) Thr (T)					glutamine (146) Gln (Q)				

ACIDES AMINES : Formules à pH 7, (Masse moléculaire), Sigles, pK_a (α-carboxyl), pK_N (α-amino), pK_R (chaîne latérale), pI (pH isoélectrique)

Chaîne latérale **non polaire**

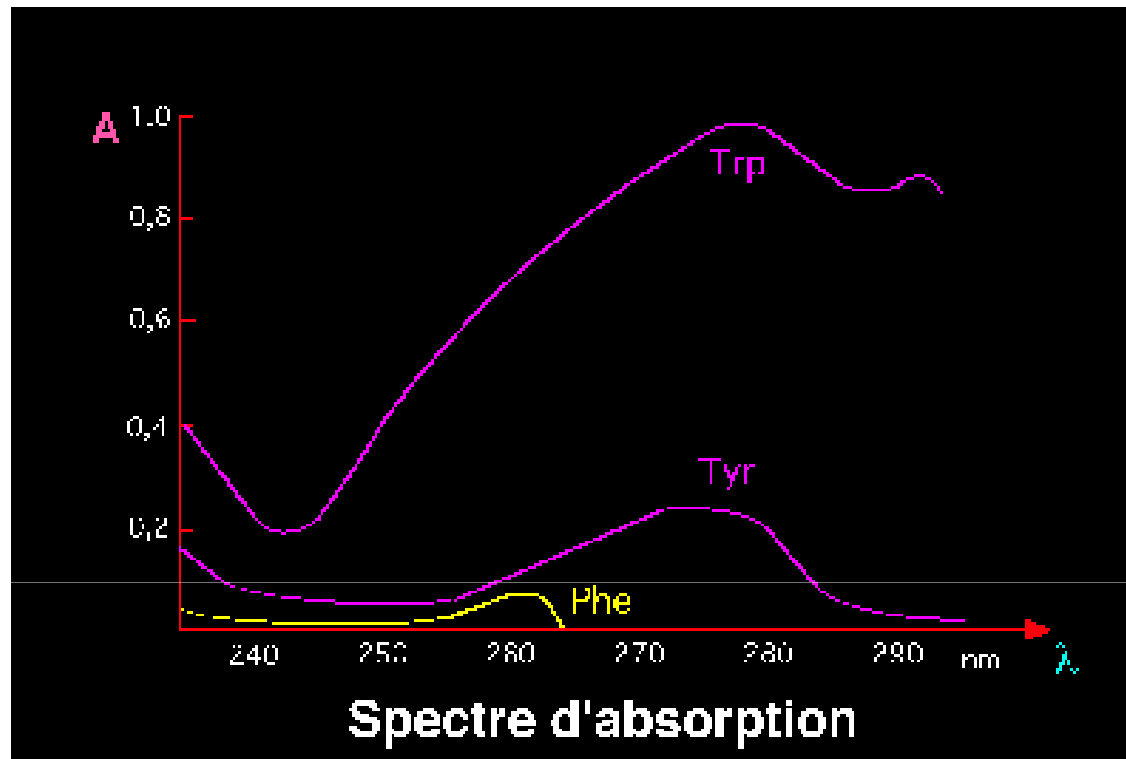
	pK _a	pK _N	pK _R	pI		pK _a	pK _N	pK _R	pI
$\begin{array}{c} \text{H}-\text{CH}-\text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$ glycine (75) Gly (G)	2.3	9.6		6.0	$\begin{array}{c} \text{CH}_2 \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{CH}_2-\text{CH}-\text{COO}^- \\ \\ \text{CH}_2-\text{NH}_2^+ \end{array}$ proline (115) Pro (P)	2.0	10.6		6.3
$\begin{array}{c} \text{CH}_3-\text{CH}-\text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$ alanine (89) Ala (A)	2.3	9.7		6.0	$\begin{array}{c} \text{C}_6\text{H}_5-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$ phénylalanine (165) Phe (F)	1.8	9.1		5.5
$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \diagup \\ \text{CH}-\text{CH}-\text{COO}^- \\ \\ \text{CH}_3 \quad \text{NH}_3^+ \end{array}$ valine (117) Val (V)	2.3	9.6		6.0	$\begin{array}{c} \text{CH}_3-\text{S}-(\text{CH}_2)_2-\text{CH}-\text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$ méthionine (149) Met (M)	2.3	9.3		5.8
$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \diagup \\ \text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COO}^- \\ \\ \text{CH}_3 \quad \text{NH}_3^+ \end{array}$ leucine (131) Leu (L)	2.4	9.6		6.0	$\begin{array}{c} \text{C}_6\text{H}_5-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$ tryptophane (204) Trp (W)	2.4	9.4		5.9
$\begin{array}{c} \text{CH}_3-\text{CH}_2 \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{CH}-\text{CH}-\text{COO}^- \\ \\ \text{CH}_3 \quad \text{NH}_3^+ \end{array}$ isoleucine (131) Ile (I)	2.4	9.7		6.1					

Liste des 20 acides aminés représentés dans le **code génétique**

Nom	Code à 1 lettre	Code à 3 lettres	Masse molaire (g.mol ⁻¹)	pI	pK ₁ (-COOH)	pK ₂ (-NH ₂)	pK _R (-R)
Alanine	A	Ala	89.09	6.01	2.35	9.87	
Arginine	R	Arg	174.20	10.76	1.82	8.99	12.48
Asparagine	N	Asn	132.12	5.41	2.14	8.72	
Aspartate	D	Asp	133.10	2.85	1.99	9.90	3.90
Cystéine	C	Cys	121.16	5.05	1.92	10.70	8.18
Glutamate	E	Glu	147.13	3.15	2.10	9.47	4.07
Glutamine	Q	Gln	146.15	5.65	2.17	9.13	
Glycine	G	Gly	75.07	6.06	2.35	9.78	
Histidine	H	His	155.16	7.60	1.80	9.33	6.04

Isoleucine	I	Ile	131.17	6.05	2.32	9.76	
Leucine	L	Leu	131.17	6.01	2.33	9.74	
Lysine	K	Lys	146.19	9.60	2.16	9.06	10.54
Méthionine	M	Met	149.21	5.74	2.13	9.28	
Phénylalanine	F	Phe	165.19	5.49	2.20	9.31	
Proline	P	Pro	115.13	6.30	1.95	10.64	
Sérine	S	Ser	105.09	5.68	2.19	9.21	
Thréonine	T	Thr	119.12	5.60	2.09	9.10	
Tryptophane	W	Trp	204.23	5.89	2.46	9.41	
Tyrosine	Y	Tyr	181.19	5.64	2.20	9.21	10.46
Valine	V	Val	117.15	6.00	2.39	9.74	

Spectre d'absorption



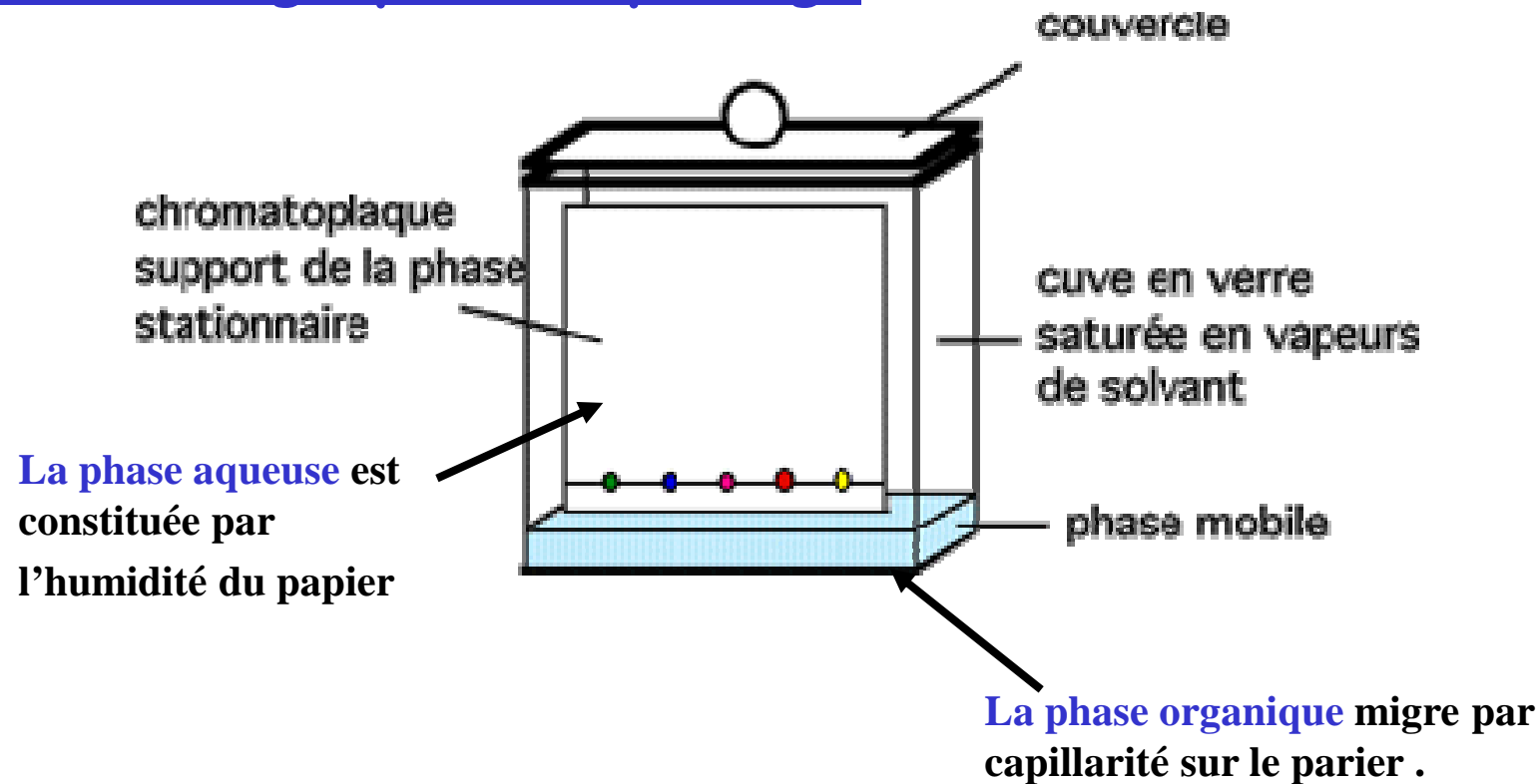
Les solutions AA sont **incolores**. Les AA **aromatiques** absorbent dans l'U.V. entre **260 et 280 nm**. L'absorption ultraviolette des protéines provient de leur teneur en **tryptophane** et parfois en **tyrosine**.

L'absorption à **280 nm** est due principalement aux noyaux **phénols des tyrosines**, qui sont plus fréquentes dans les protéines que **le tryptophane**, qui absorbe beaucoup plus à cette longueur d'onde.

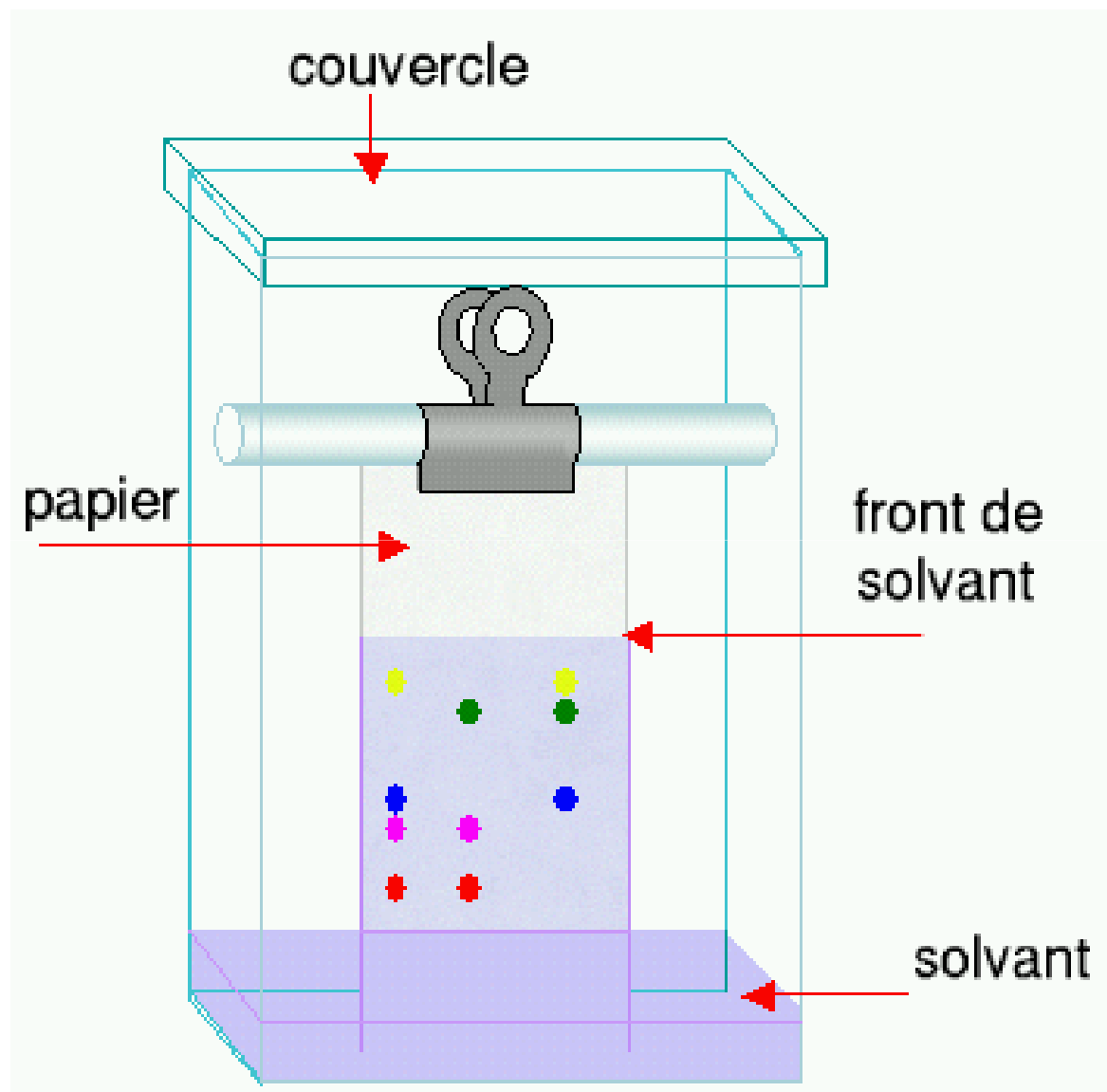
L'absorption de la lumière UV à **280 nm** est caractéristique des **protéines** et sert à les doser.

Méthodes de détection et de dosage des AA

A-Chromatographie de partage

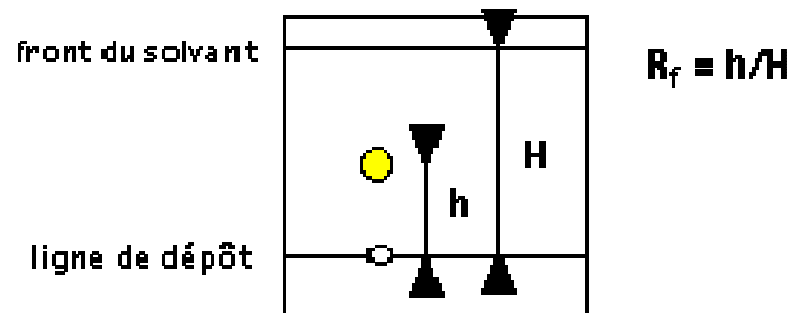
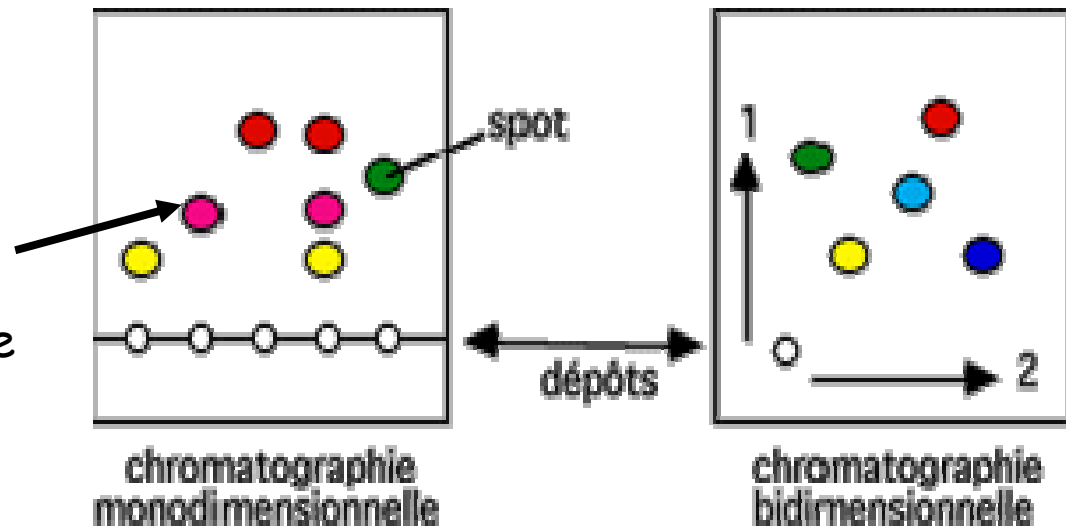


Dans la chromatographie sur papier, la phase aqueuse est constituée par l'humidité du papier (ϕ se stationnaire), la phase organique (ϕ se mobile) migre par capillarité sur le papier, entraînant les AA, ceux qui sont hydrophobes migrent plus rapidement que ceux qui sont hydrophiles.

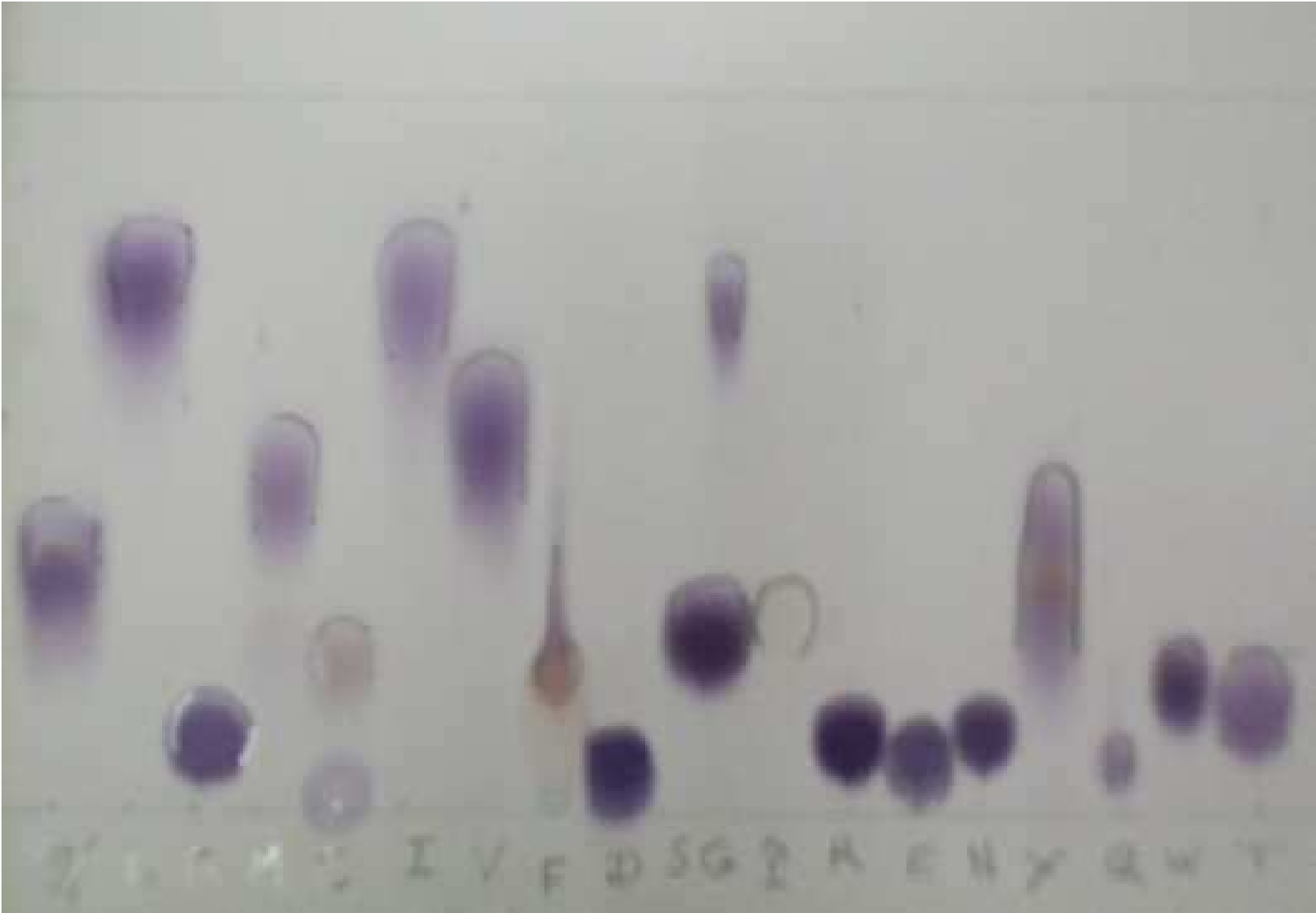


Après développement du chromatogramme les **AA** seront identifiés par la **ninhydrine**.

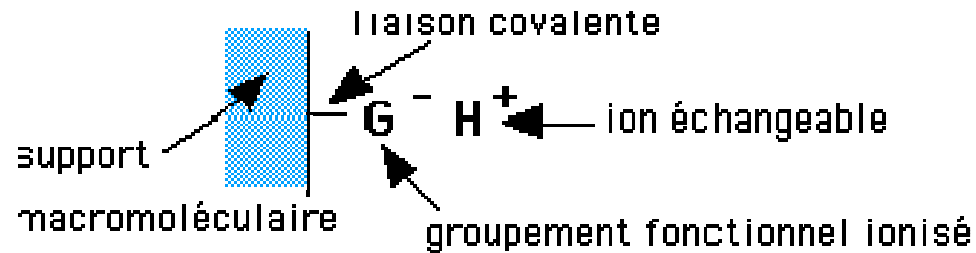
Chaque **AA** est caractérisé par la vitesse de son déplacement sur le papier.



$$R_f = \frac{h \text{ parcourue AA}}{H \text{ front de migration}}$$



B-Chromatographie sur échangeur d'ions



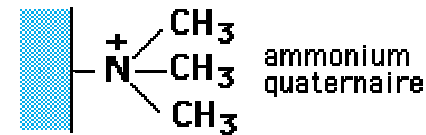
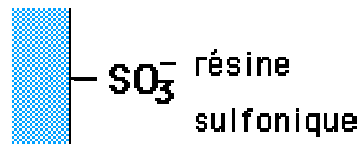
Les résines à **échange d'ions** sont des polymères insolubles qui fixent des fonctions **polaires ionisables**.

Echangeur de cations

Echangeur d'anions

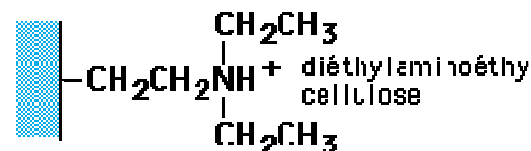
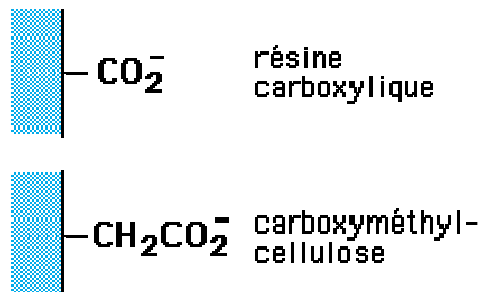
Forts

G.Sulfonyl

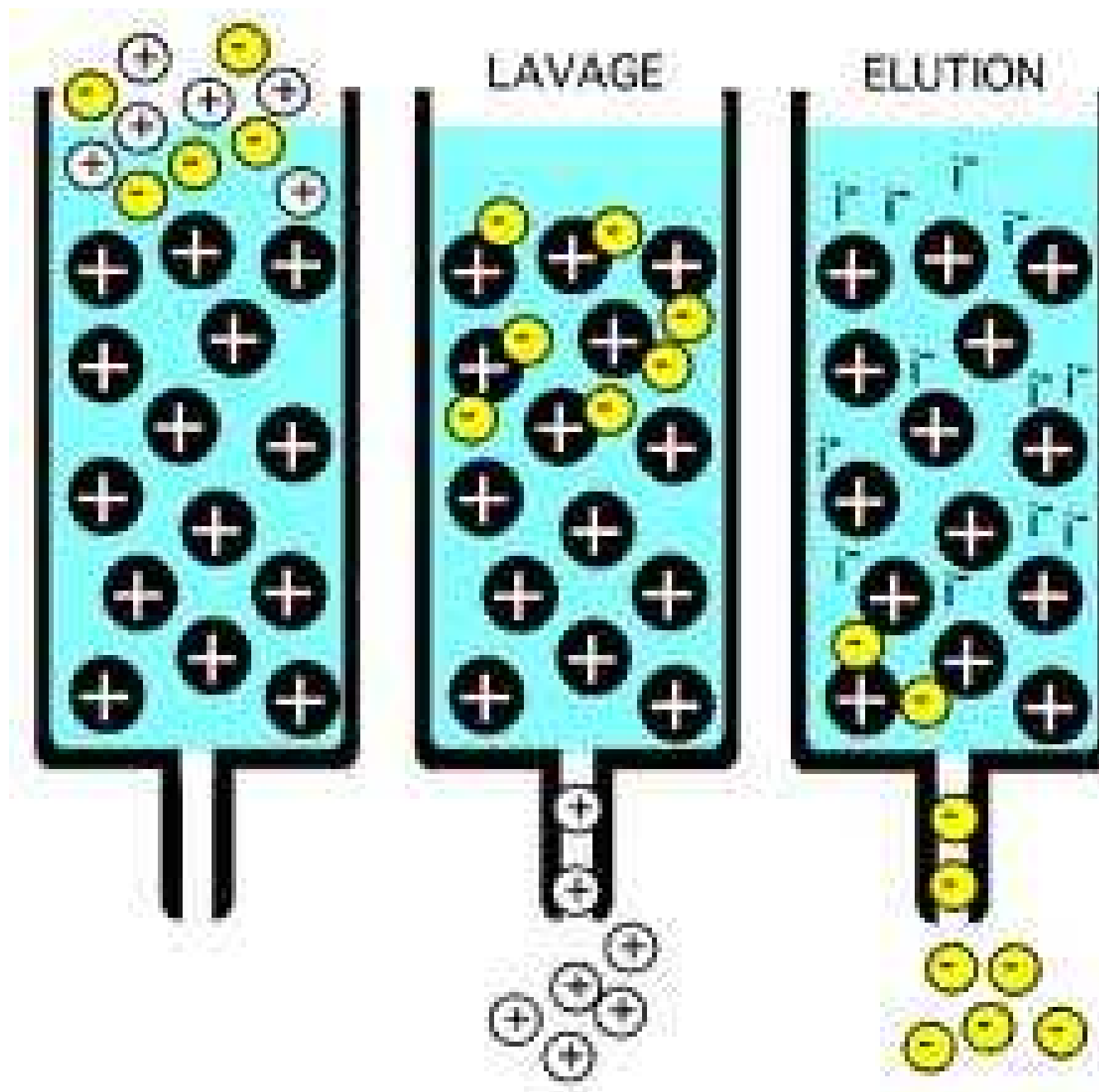


Faibles

Carboxyméthyl Cellulose

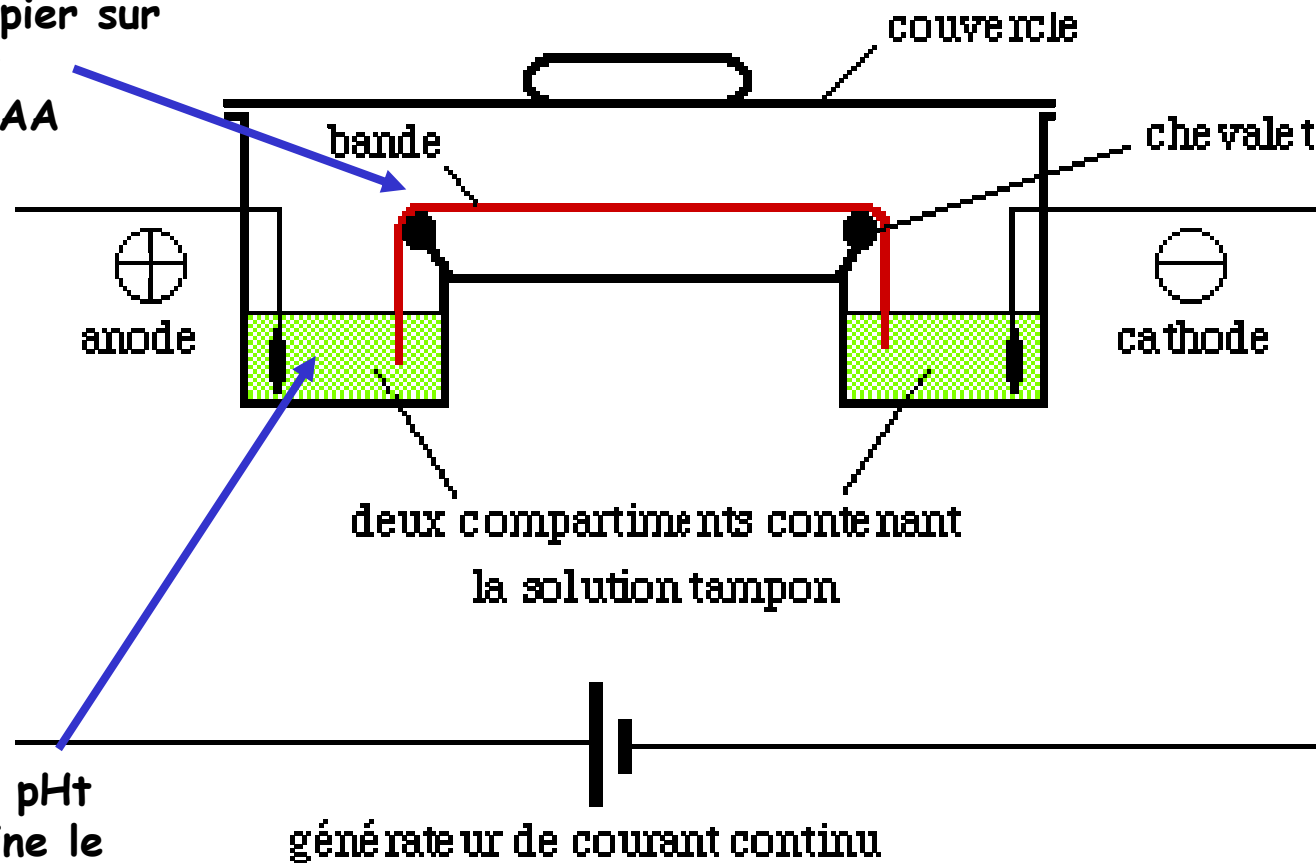


DEAE-Cellulose



C- Électrophorèse: C'est une méthode de séparation de particules **chargées électriquement** par **migration différentielle** sous l'action d'un champ électrique.

Bande de papier sur laquelle sont déposés les AA

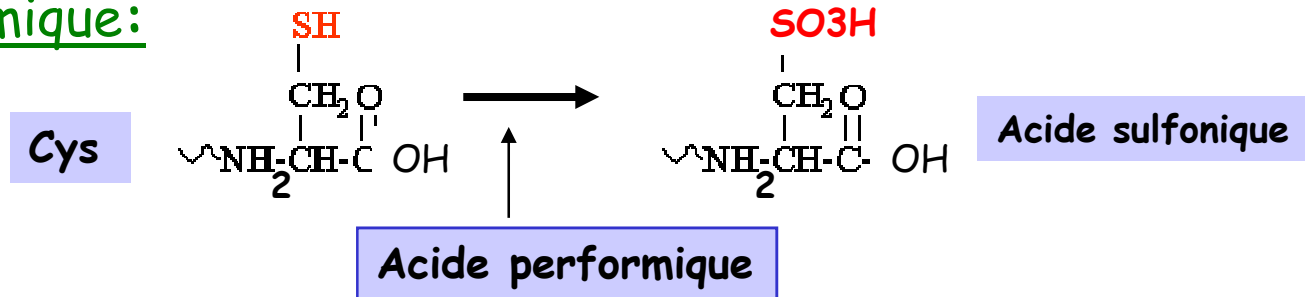


La différence $pH_t - pH_i$ détermine le signe de la charge Q d'un acide aminé.

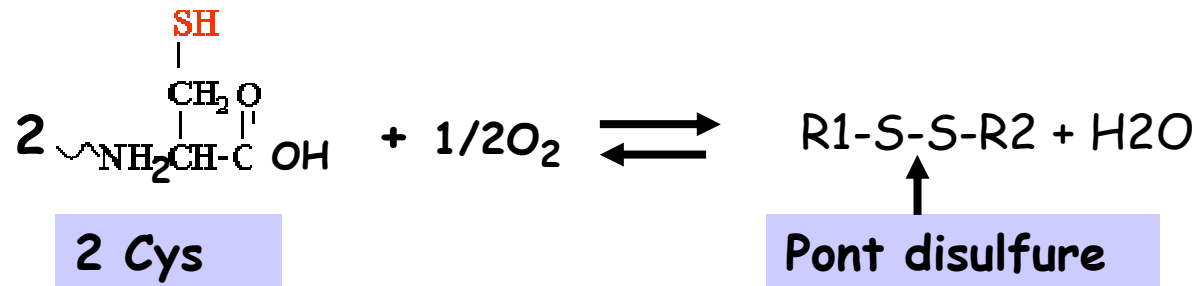
D-Propriétés associées à certains radicaux

1- La fonction SH de la cystéine (Fonction Thiol)

Oxydation performique:



Oxydation douce par l'air: (Formation de pont disulfure)

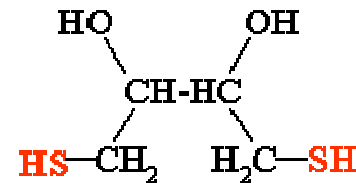


Réduction d'un pont disulfure:

2 Agents réducteurs:

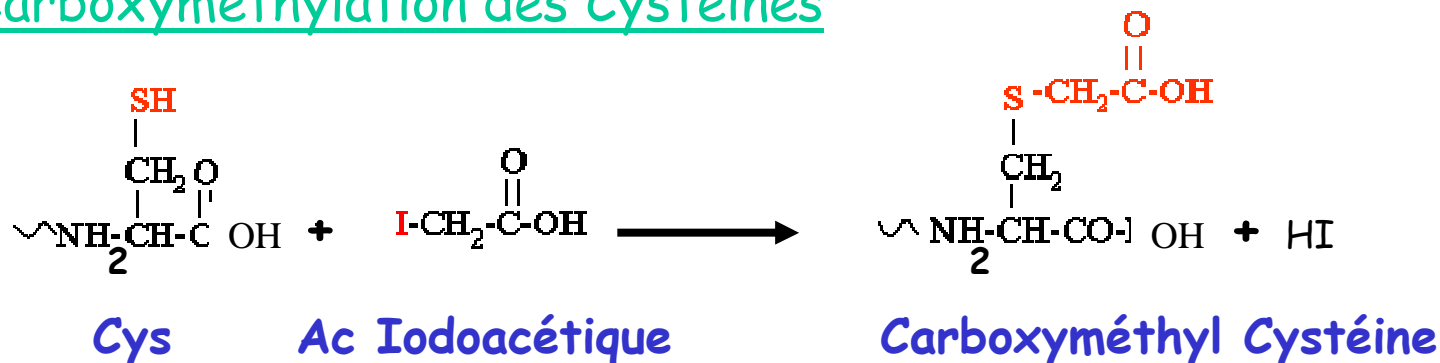
- Le β -mercaptoéthanol : **HS-CH₂-CH₂OH**

- Le dithiotréitol (DTT) :



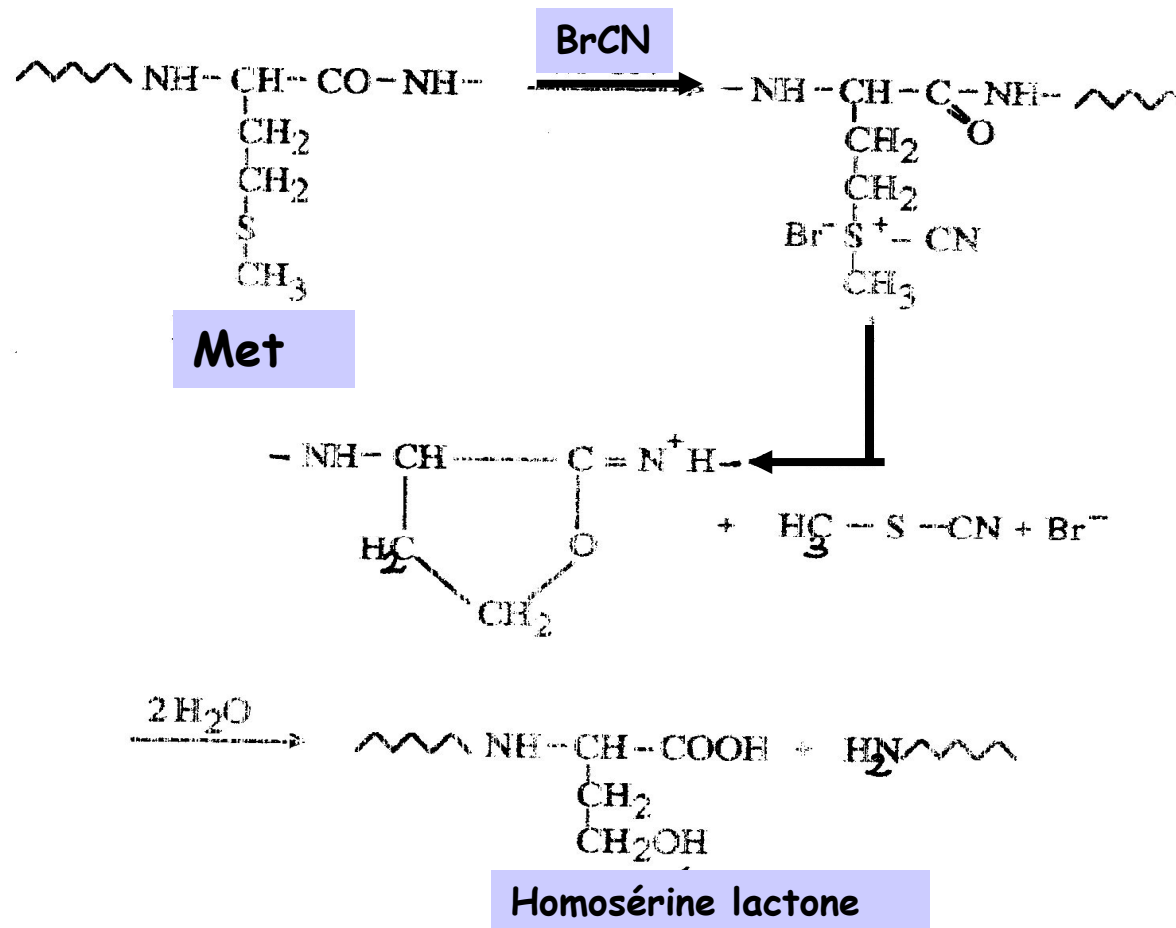
La réduction est une réaction réversible.

Carboxyméthylation des Cystéines



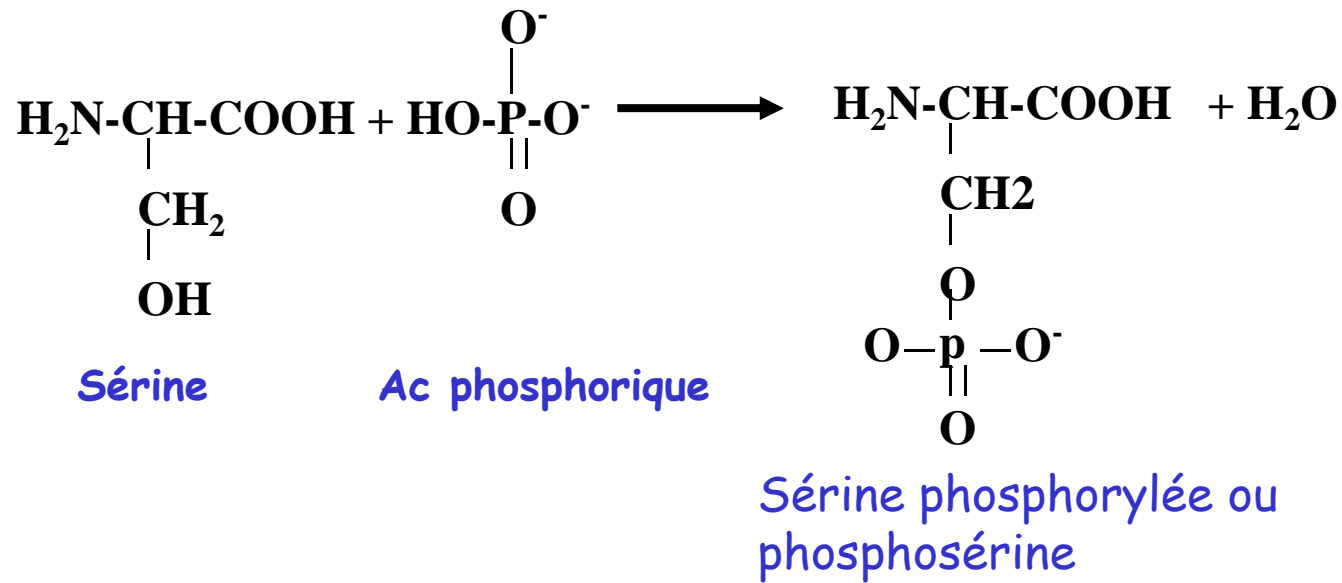
Cette réaction est irréversible.

2-Thioéther de la Méthionine : (Réaction au Bromure de cyanogène)



Cette réaction est spécifique des méthionines.

3-L'hydroxyl de la Sérine

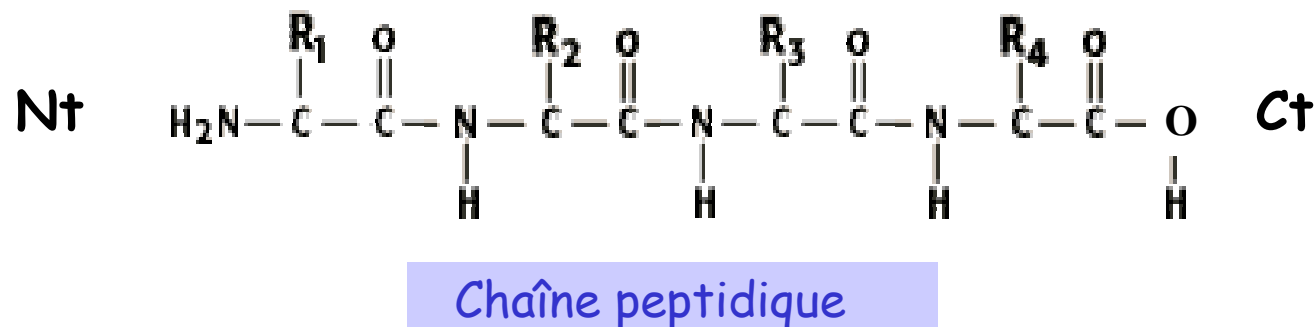
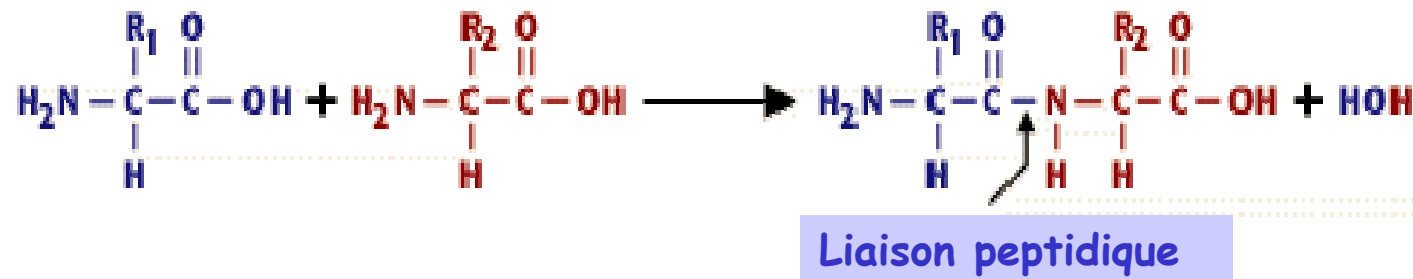


Certaines sérines sont phosphorylées naturellement.

Les Peptides

A- Formation de la liaison peptidique

Un peptide : combinaison de 2 ou plusieurs AA par des liaisons amides particulières = liaisons peptidiques



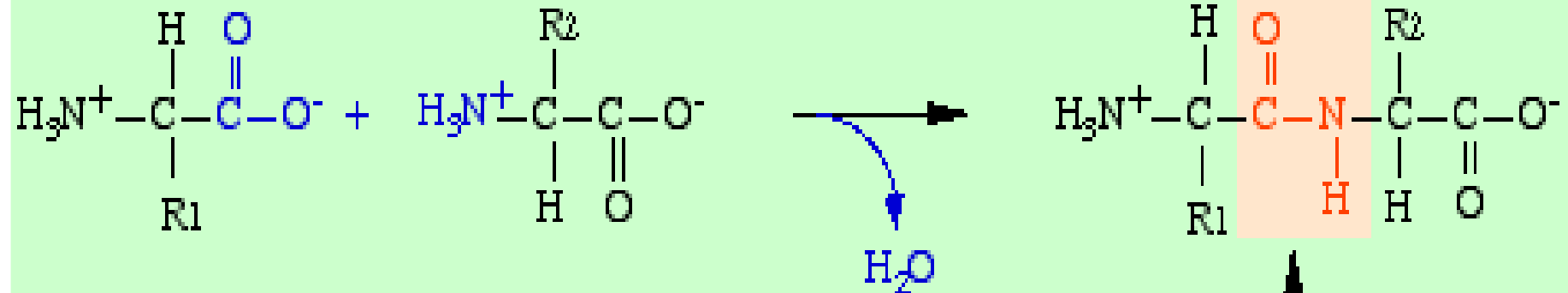
aa n° 1

+

aa n° 2



dipeptide



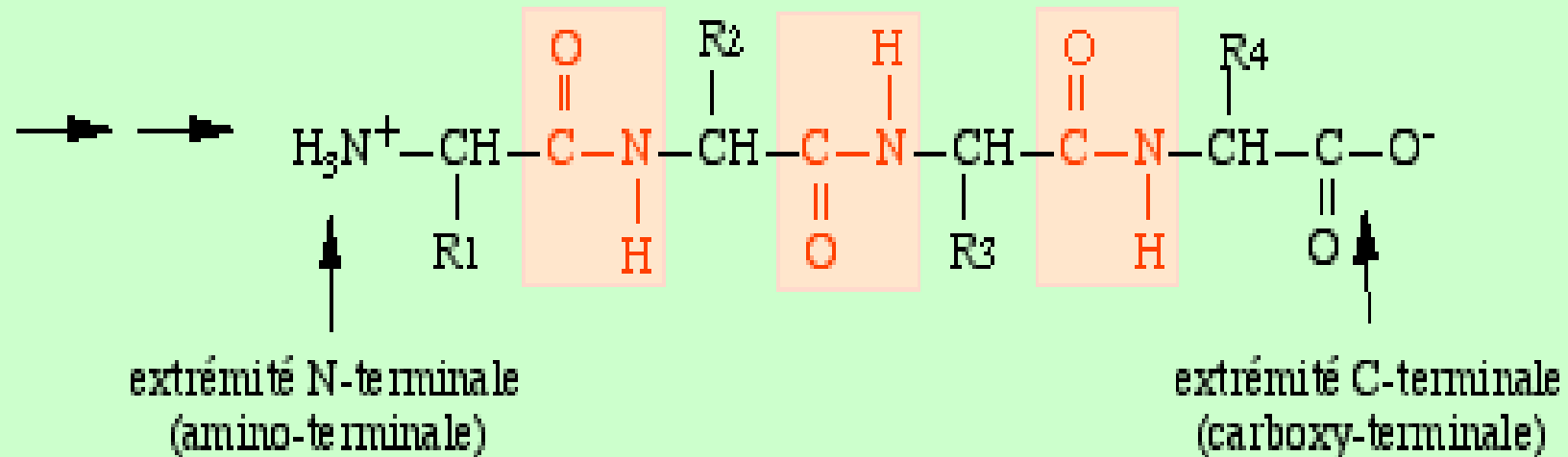
liaison peptidique

aa 1

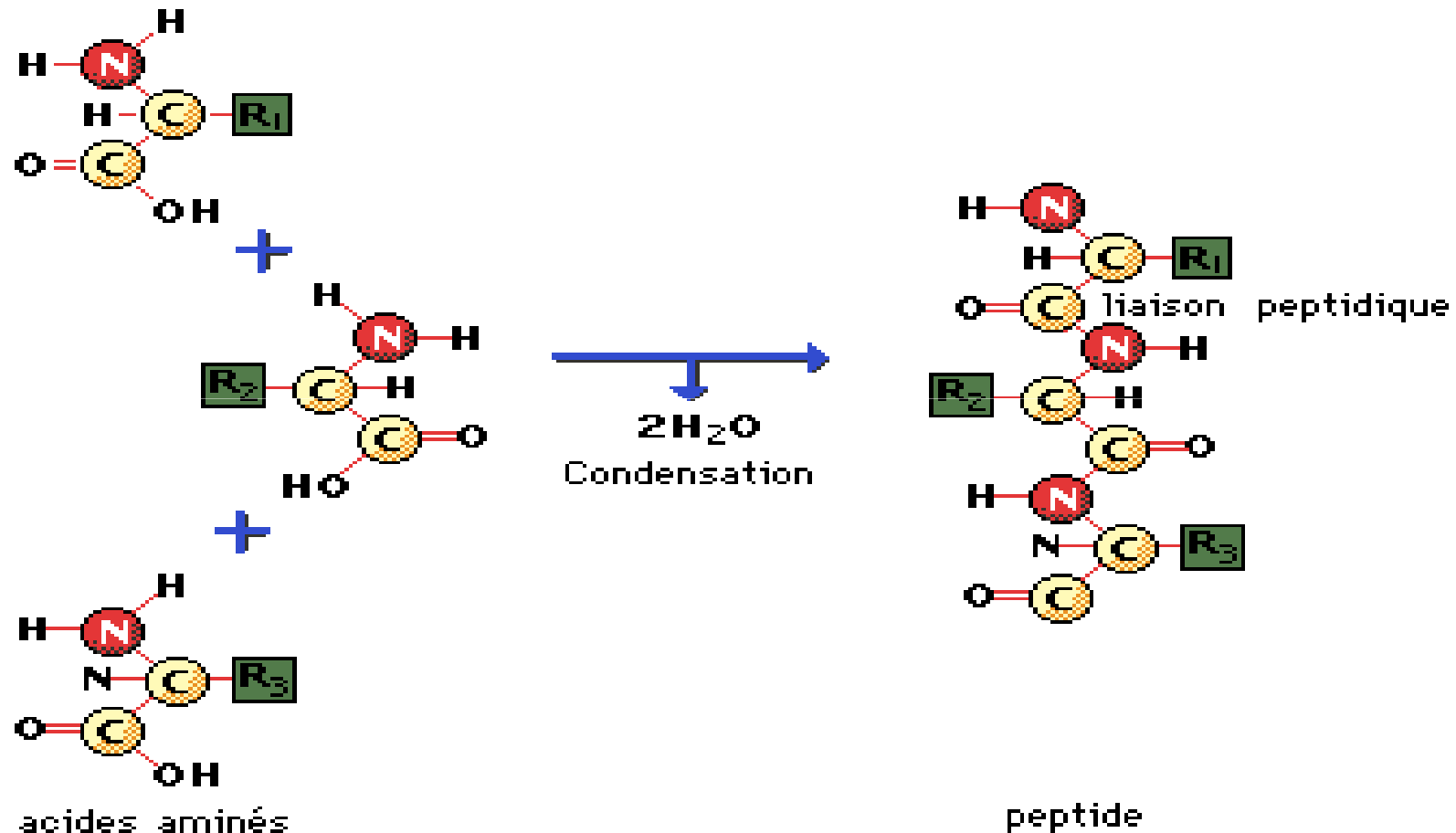
aa 2

aa 3

aa 4

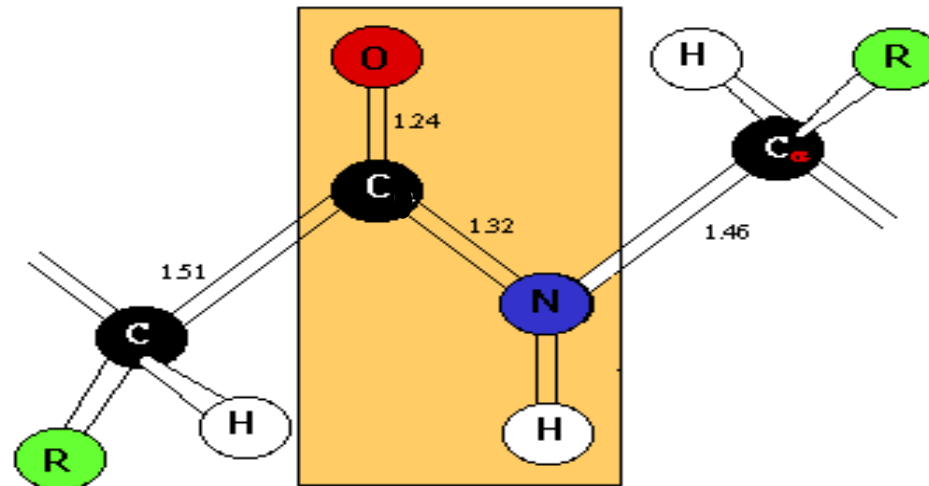


Entre l'extrémité Nt et Ct du peptide, ce qui reste de chaque AA après perte d'une molécule d'eau pour former une liaison peptidique s'appelle un **résidu d'acide aminé**.



Les oligopeptides (**dipeptides et tripeptides**) ne donnent pas de réaction au Biuret, qui n'est positive que si le peptide contient au moins **4 AA** (Coloration bleu-violacée)

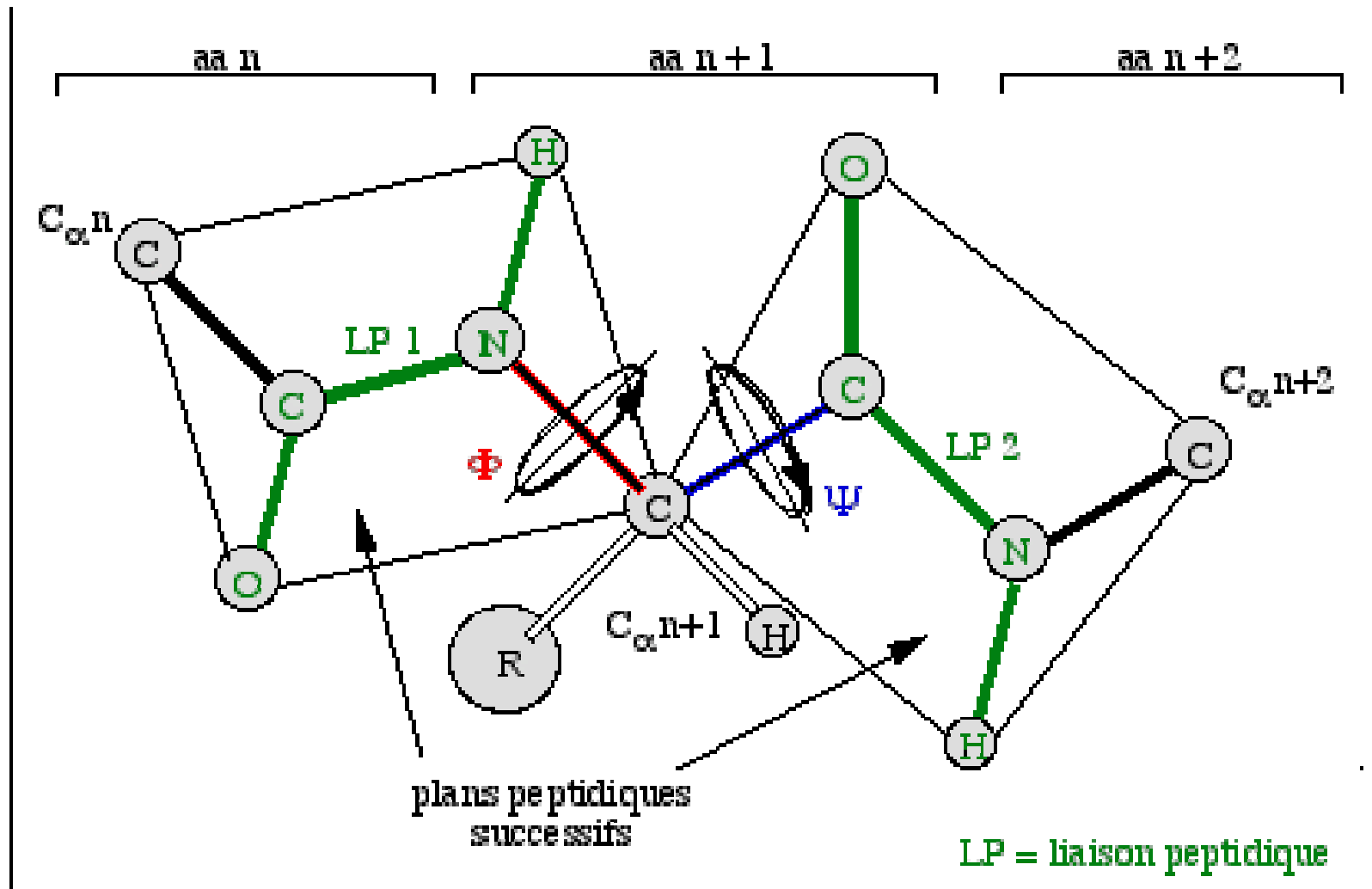
B- Structure de la chaîne peptidique



Configuration Trans de 2
résidus successifs

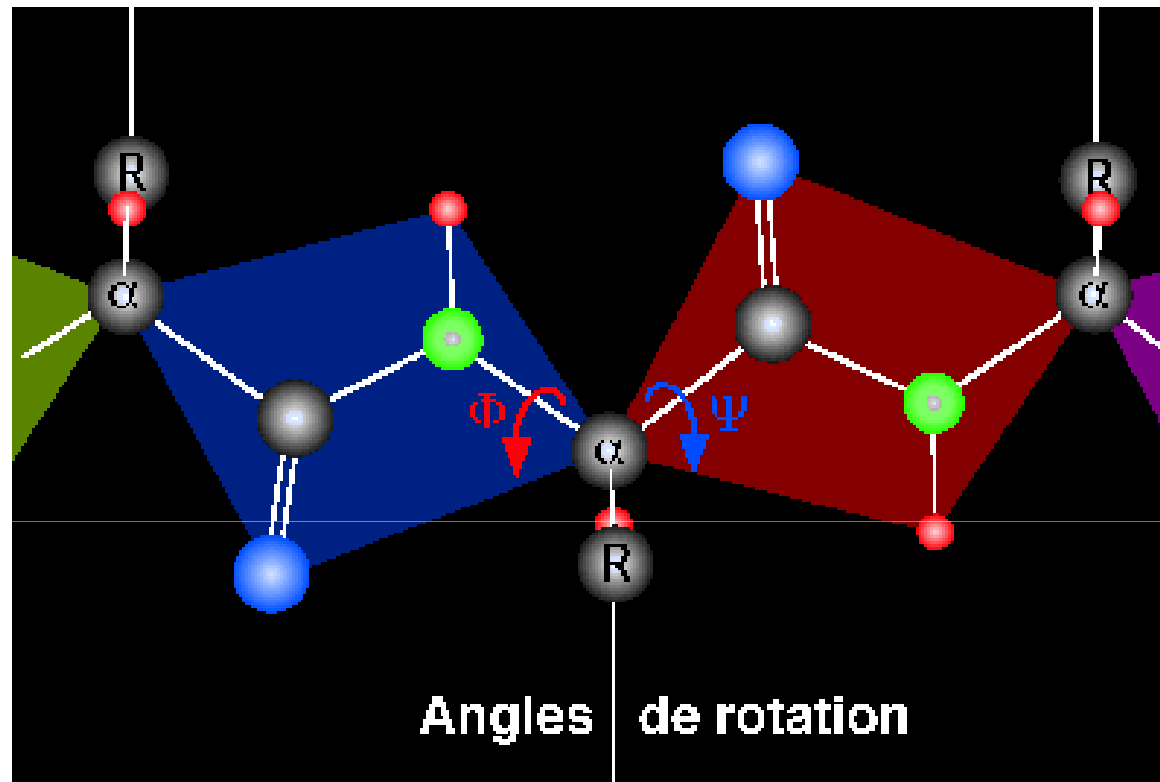
Les atomes participant à la liaison peptidique sont $C\alpha$, CO et NH. La liaison peptidique peut exister sous la forme *cis* ou *trans*. Le placement des R d'AA sur les $C\alpha$ n'est possible que dans la configuration *trans*. La liaison *carbone-azote* possède un caractère partiel de double liaison: le motif de la liaison peptidique est plan.

L'agencement spatial de la chaîne polypeptidique



Chaque plan comprend six atomes. Les plans sont articulés entre eux autour des carbones alpha par libre rotation : angle phi (Φ , C_{α} -N) et psi (Ψ , C_{α} -C) du même aa.

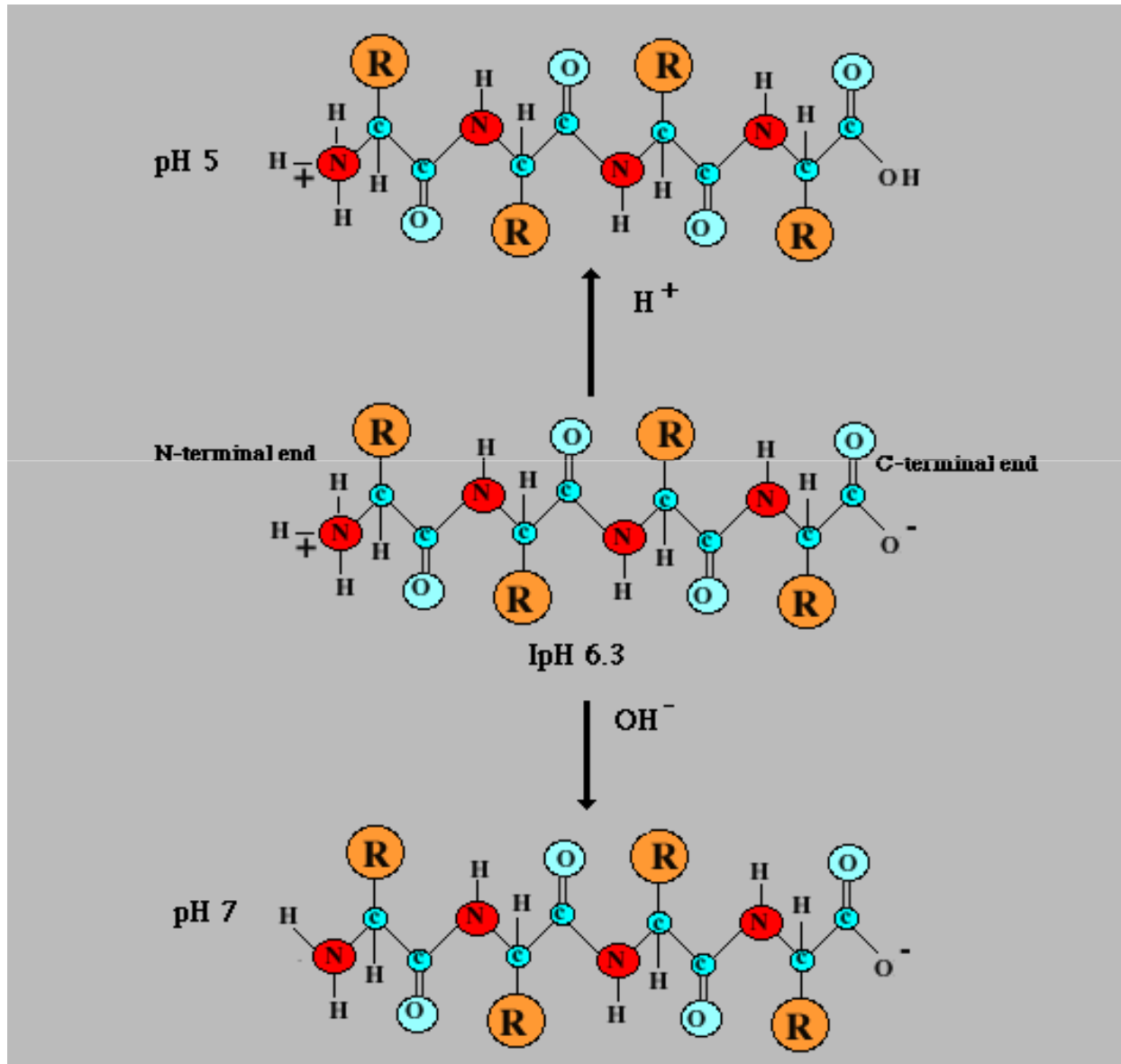
Le squelette polypeptidique apparaît comme une succession de plans, limitant énormément les degrés de liberté de la structure.



Rotation de 2 liaisons peptidiques successives autour d'un même atome de $C\alpha$.

Si les angles sont égaux, la chaîne peptidique prend une forme organisée (Structure ordonnée), sinon la structure est désordonnée (pelote statistique)

Les peptides sont des polymères chargés



Méthodes d'analyse de la séquence peptidique

A- Composition globale en AA:

Elle peut être déterminée après **HAT**:
(HCl 5.6N à 100°pd 24 à 72h)

- coupe les l. peptidiques
- détruit le Trp
- transforme Asn en Asp et Gln en Glu

L'établissement de la séquence des AA d'une chaîne peptidique comprend plusieurs **étapes d'hydrolyses (chimiques ou enzymatiques)**. L'identification et le dosage des AA constitutifs s'effectuera par chromatographie sur résine échangeuse d'ion

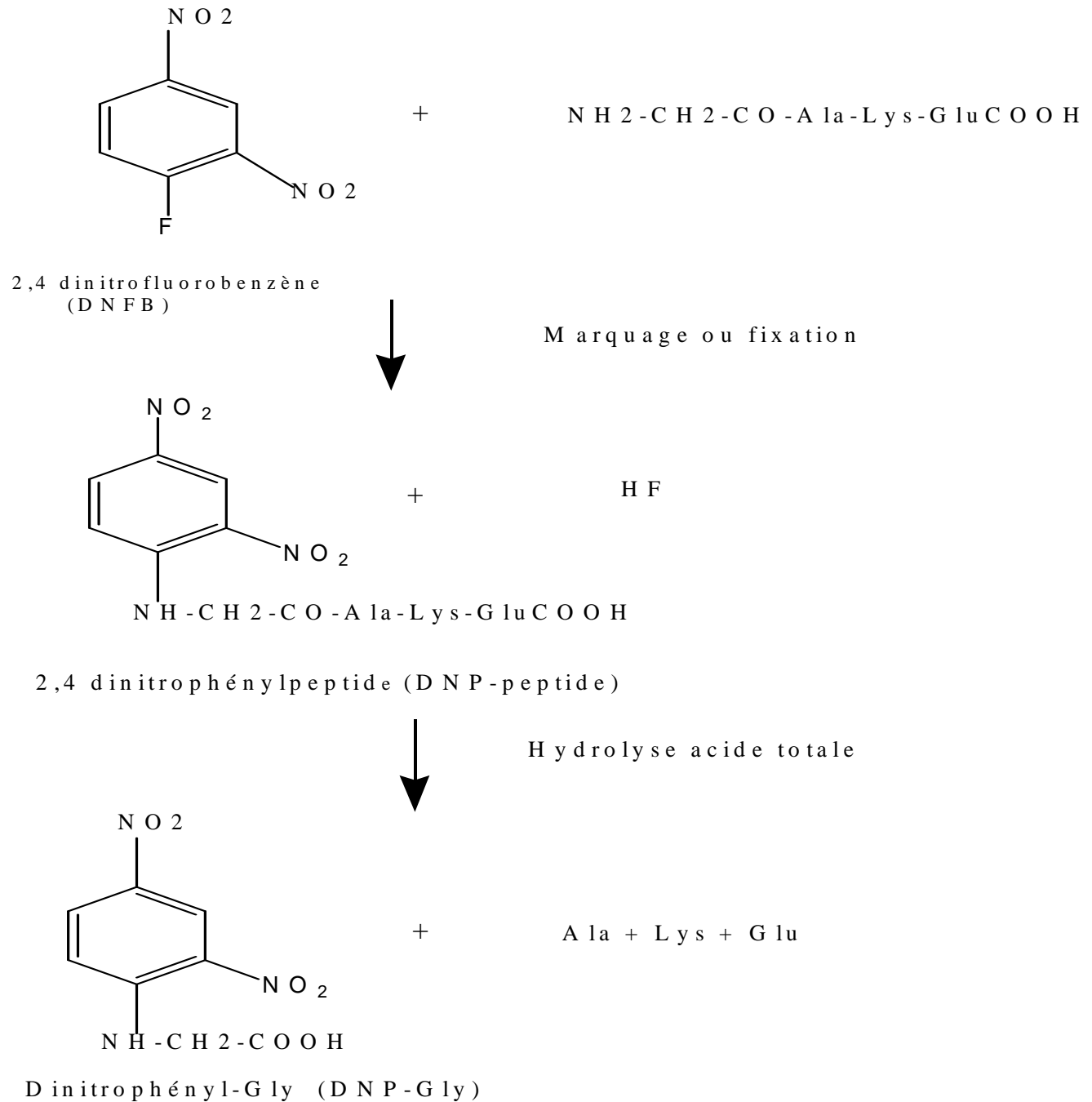
B- Détermination du résidu N-terminal

*Les réactifs chimiques:

- Le 2,4-dinitrofluorobenzène (DNFB) \longrightarrow (DNP AA).
- Le chlorure de dansyl (DNS-Cl) \longrightarrow DNS AA
- Le phénylthiocyanate (PITC) \longrightarrow PTH AA. Cette réaction est cyclique.

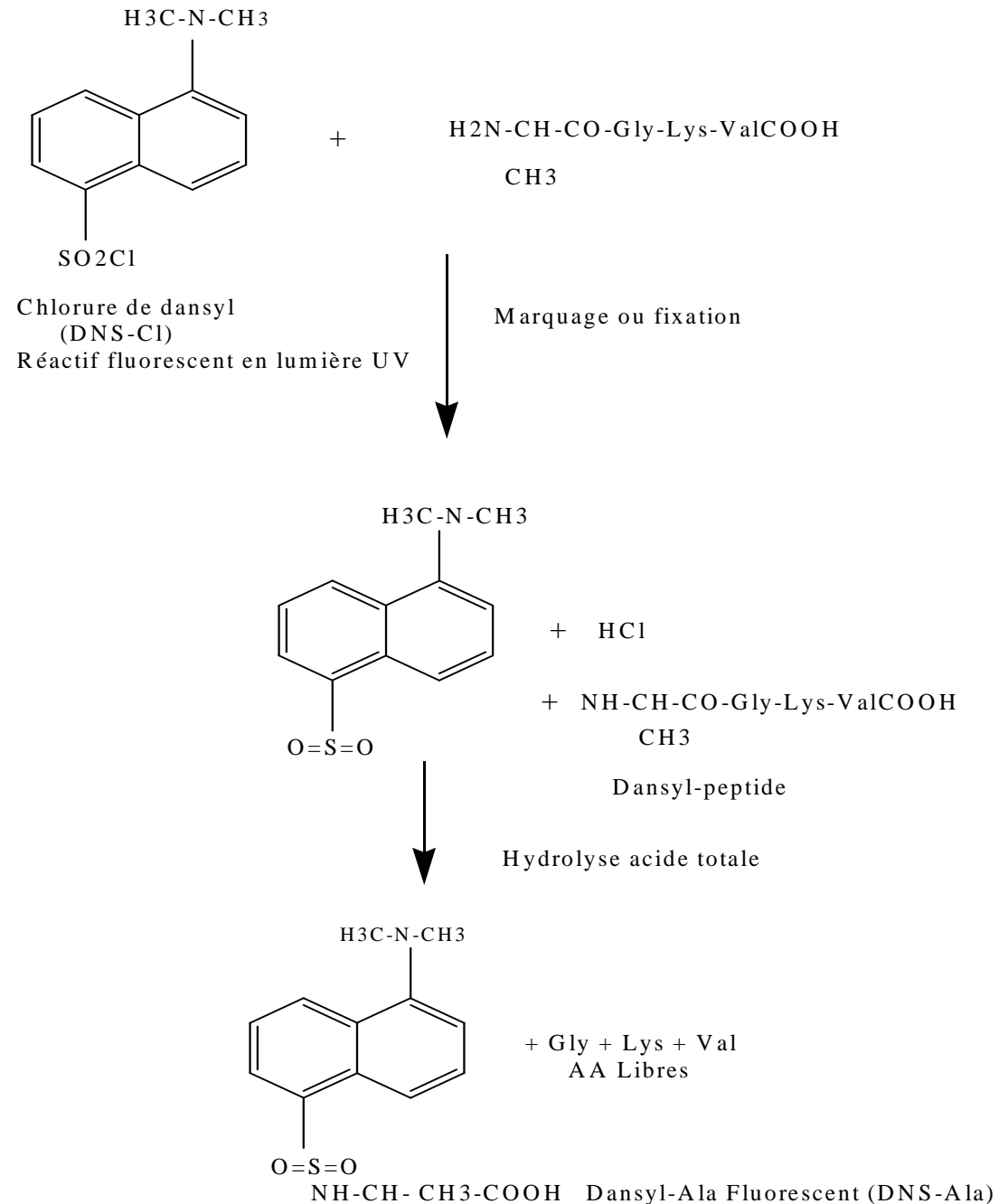
Méthode de Sanger

-Le 2,4-dinitrofluorobenzène (DNFB) dans la méthode de Sanger qui donne avec l'AA Nt un dinitrophényl AA (DNP AA).



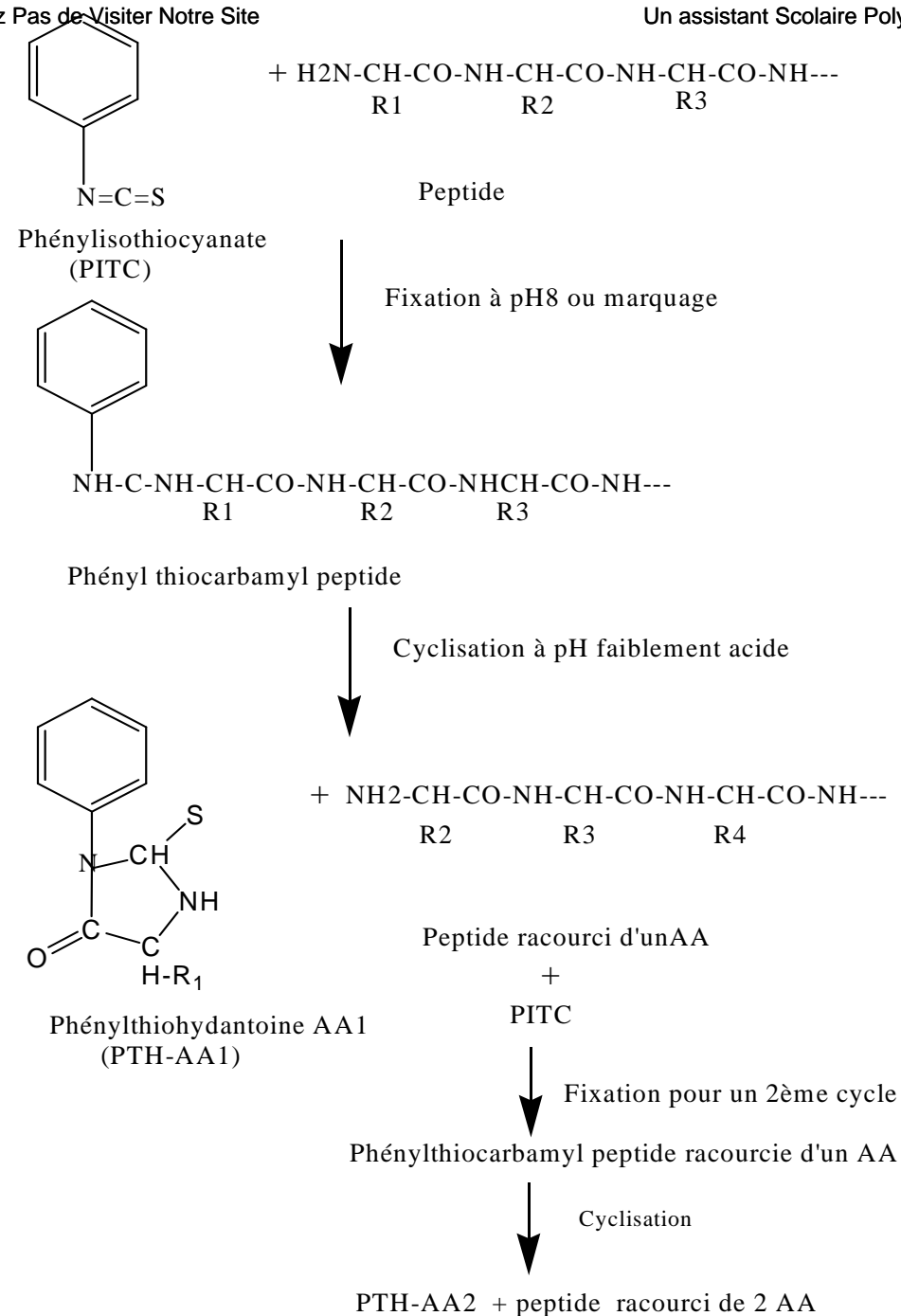
Méthode de dansylation

-Le chlorure de dansyl (DNS-Cl) dans la méthode de dansylation qui donne un DNS AA fortement fluorescent en UV. La dansylation est 100 fois plus sensible que la méthode de Sanger.



Dégradation d'Edman

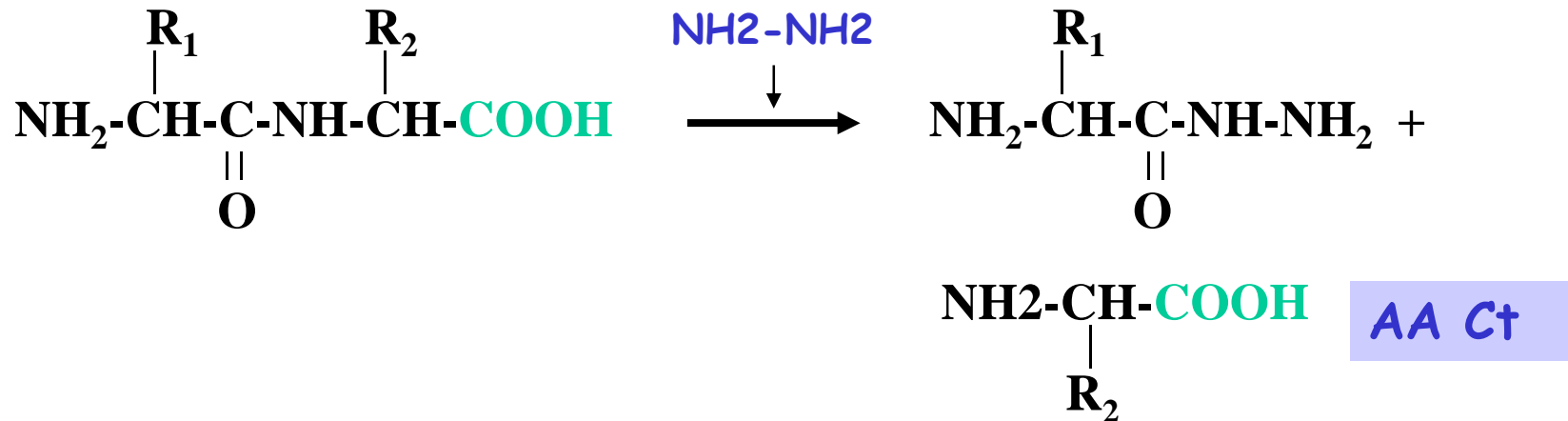
Le phényl isothiocyanate (PITC) dans la Dégradation d'Edman qui donne un PTH AA. Cette réaction est cyclique.



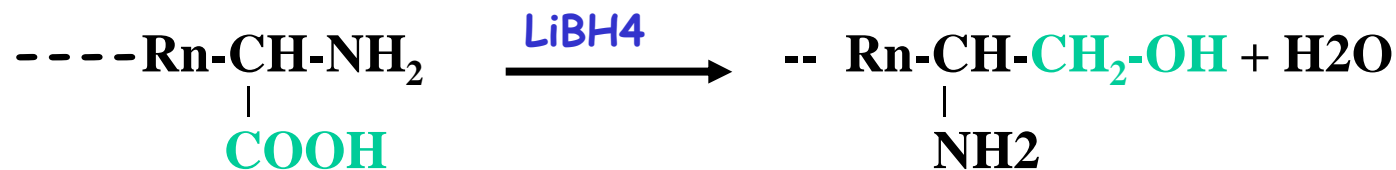
* Méthode enzymatique utilisant les **aminopeptidases A et N** qui sont spécifiques des AA N-terminaux.

C- Détermination du résidu C-terminal

- Méthode chimique: - par l'hydrazine anhydre à chaud :



- Réduction par le Borohydrure de Lithium :



-Méthode enzymatique:

Les Carboxypeptidase A ou B sont des exopeptidases qui libèrent l'AA en Ct .

D-Hydrolyse partielle des chaînes

- Digestion enzymatique: Endopeptidases spécifiques:

- Trypsine → Arg et Lys
- Chymotrypsine → les AA aromatiques: Phe, Tyr, Trp.
- Clostripaine → Arg
- Protéase de staphylocoque → Glu
- Thermolysine ← Leu, Ile, Tyr

- Méthode chimique:

- Le BrCN qui coupe après la Met et la transforme en homosérine.

A- les Hormones Peptidiques

Les hormones peptidiques sont une classe de peptides sécrétés dans la circulation sanguine qui ont des fonctions endocrine chez les animaux.

1- Hormones Hypophysaires:

- ° La vasopressine : action antidiurétique, elle diminue le volume des urines en augmentant la perméabilité à l'eau du tube collecteur.



Vasopressine: 9AA

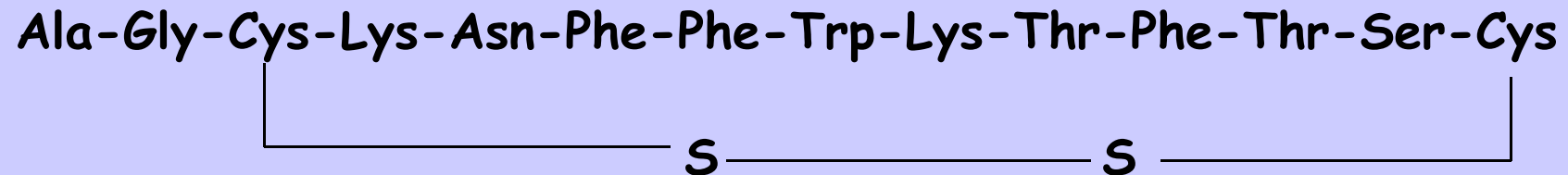
- ° ACTH : hormone adrénocorticotrope, formée de 39 résidus (PM=4500). Les résidus N et C terminaux sont protégés.

2- Hormones Hypothalamiques:

- La somatostatine:

est une hormone polypeptidique. Formée de 2 peptides : une chaîne de 14 AA, l'autre de 28.

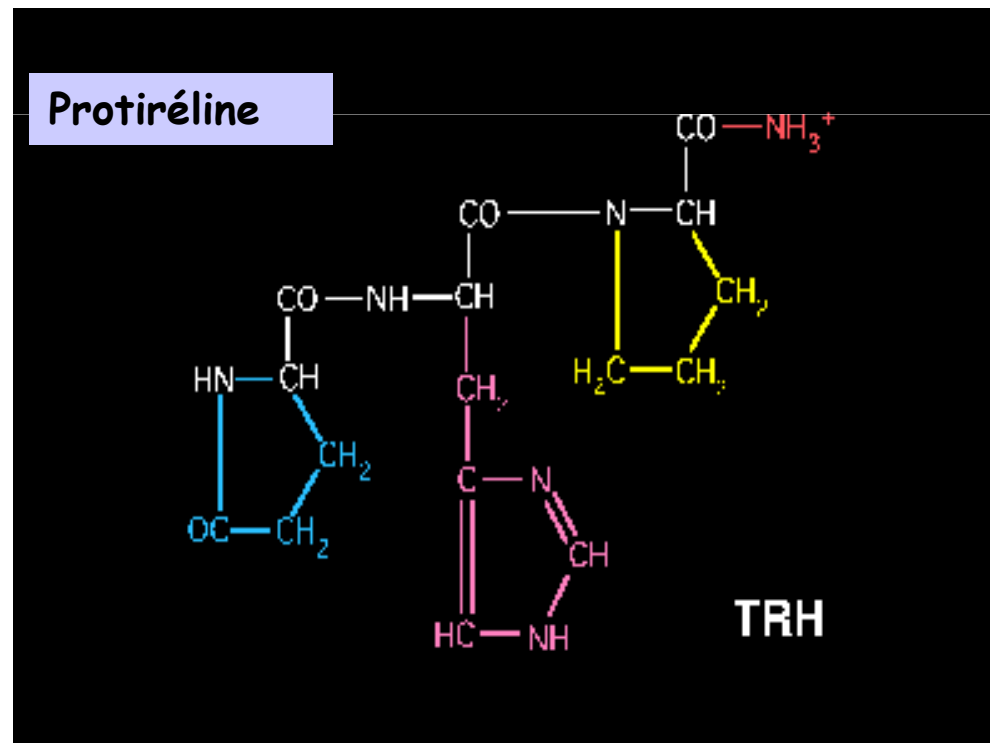
La somatostatine est sécrétée principalement par les cellules de l'hypothalamus. Elle a une action inhibitrice sur l'hormone de croissance et agit également sur le pancréas endocrine en inhibant la sécrétion de l'insuline et du glucagon.



La somatostatine (chaîne de 14 AA)

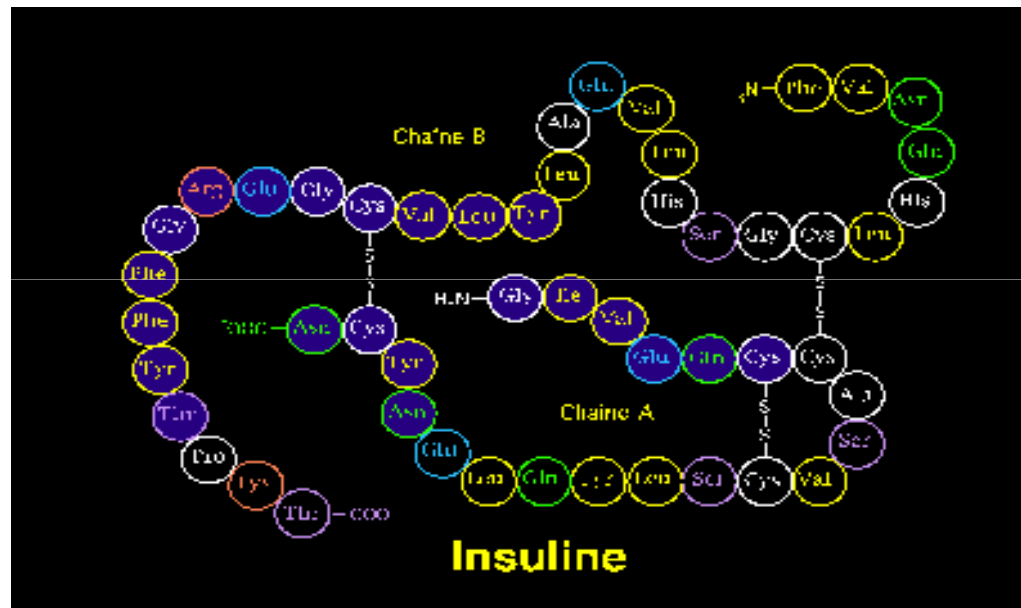
° La TRH ou protiréline :

(Thyrotropin Releasing Hormone) est l'hormone hypothalamique qui stimule l'antéhypophyse à libérer la **TSH** (Thyrotropine). La **TRH** est un tripeptide: **L-pyroglutamyl-L-histidyl-L-proline amide**.



3-Hormones Pancréatiques:

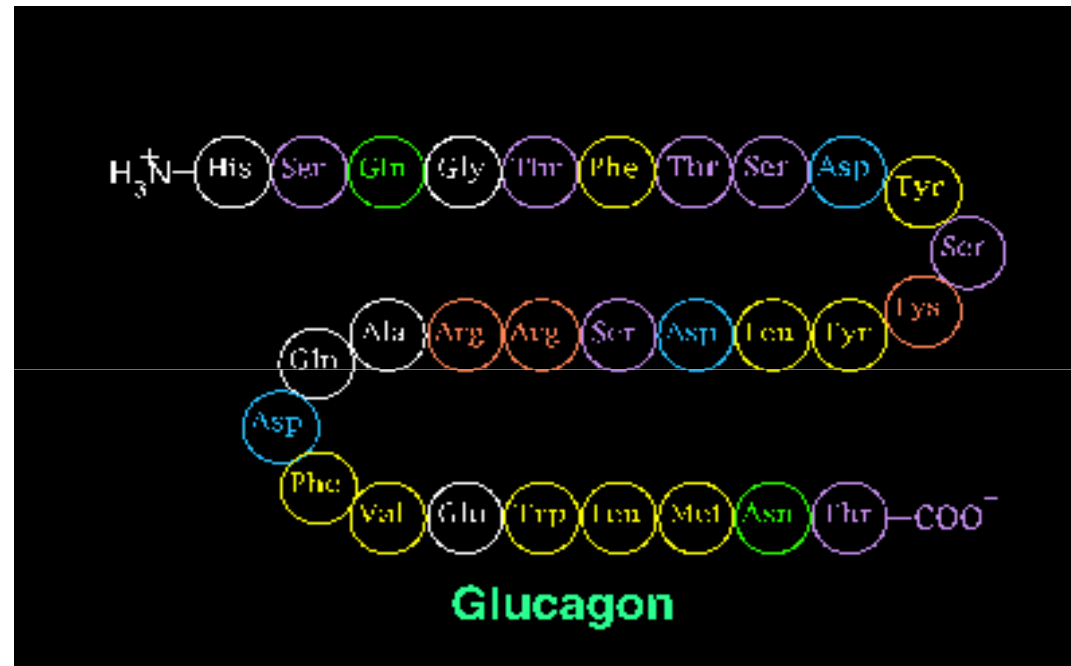
° L'insuline: hormone hypoglycémiante sécrétée par le pancréas endocrine, elle est formée de 2 chaînes peptidiques: A (21AA) et B (30AA) liées par deux ponts disulfure .



Son effet est hypoglycémiant dès que le taux de glucose dans le sang (glycémie) dépasse $6.10^{-3} M$.

L'insuline favorise le retour de la glycémie à la valeur basale de $5.10^{-3} M$.

° Le Glucagon: hormone **hyperglycémiant** sécrétée par le pancréas endocrine, formée de **29 AA**. C'est une chaîne unique sans pont disulfure.



Son effet est **hyperglycémiant** dès que le taux de glucose dans le sang (glycémie) est inférieur à **4.10⁻³ M**.

Le Glucagon favorise le retour de la glycémie à la valeur basale de **5.10⁻³ M**.

4-Hormones digestives:

- ° La gastrine: stimule la sécrétion gastrique.
- ° La sécrétine: formée de 27 AA stimule la sécrétion du suc pancréatique.
- ° La pancréozymine: (CCK), formée de 33 AA provoque la sécrétion des enzymes pancréatiques.

B- Peptides Neurotransmetteurs:

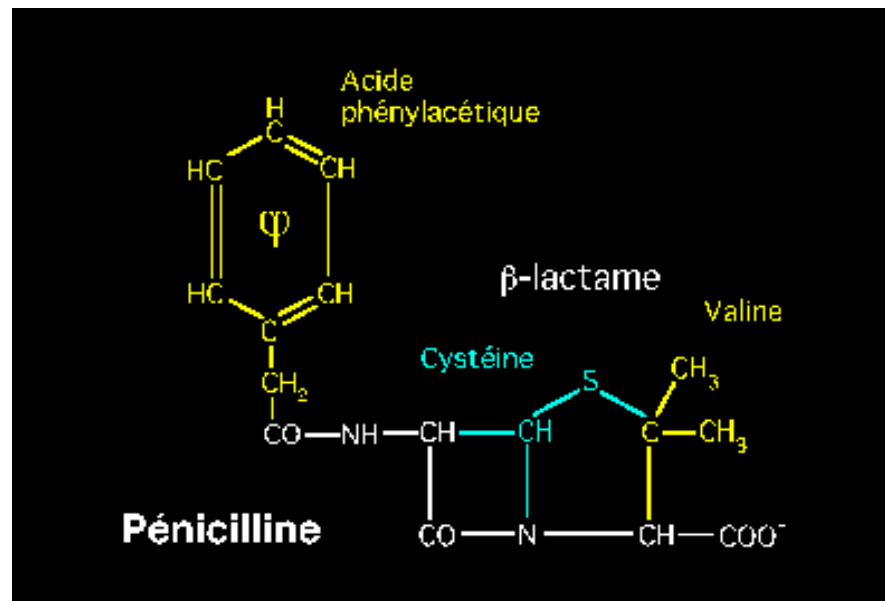
Ils sont libérés au niveau de la terminaison des axones et des membranes pré-synaptiques en diffusant vers la membrane post-synaptique.

- ° Enképhaline : pentapeptide à activité analgésique (Morphine)

C- Peptides de microorganismes:

Ils sont isolés de milieu de culture de microorganismes, doués d'une activité antibiotique utilisée en thérapeutique.

°La pénicilline est un tripeptide produit par un champignon *Penicillium chrysogenum*, qui a été le premier antibiotique naturel découvert par Fleming.

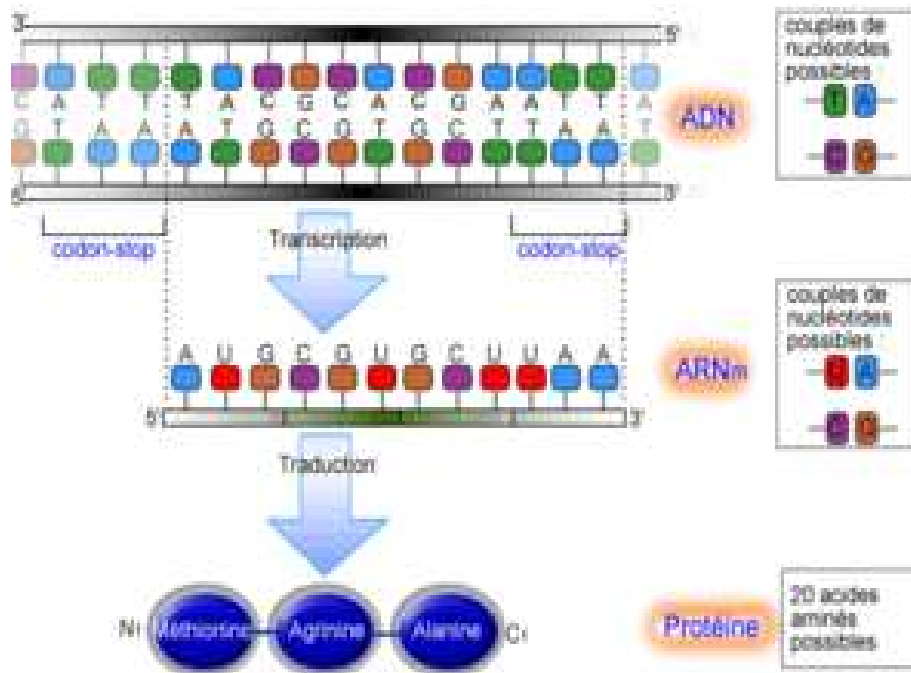


Les Protéines

- ➡ Les **acides aminés libres** circulant pénètrent d'abord à l'intérieur des cellules à l'aide de transporteurs aminés.
- ➡ Ces **transporteurs** sont sodium-dépendants et consomment de l'énergie.
- ➡ Avant d'être utilisé pour la synthèse protéique, un acide aminé doit être activé ("**chargé**") par un **ARNt** sous l'influence d'une aminoacyl-ARNt synthétase.
- ➡ Il existe vingt **aminoacyl-ARNt** synthétases, chacune étant spécifique d'un acide aminé.

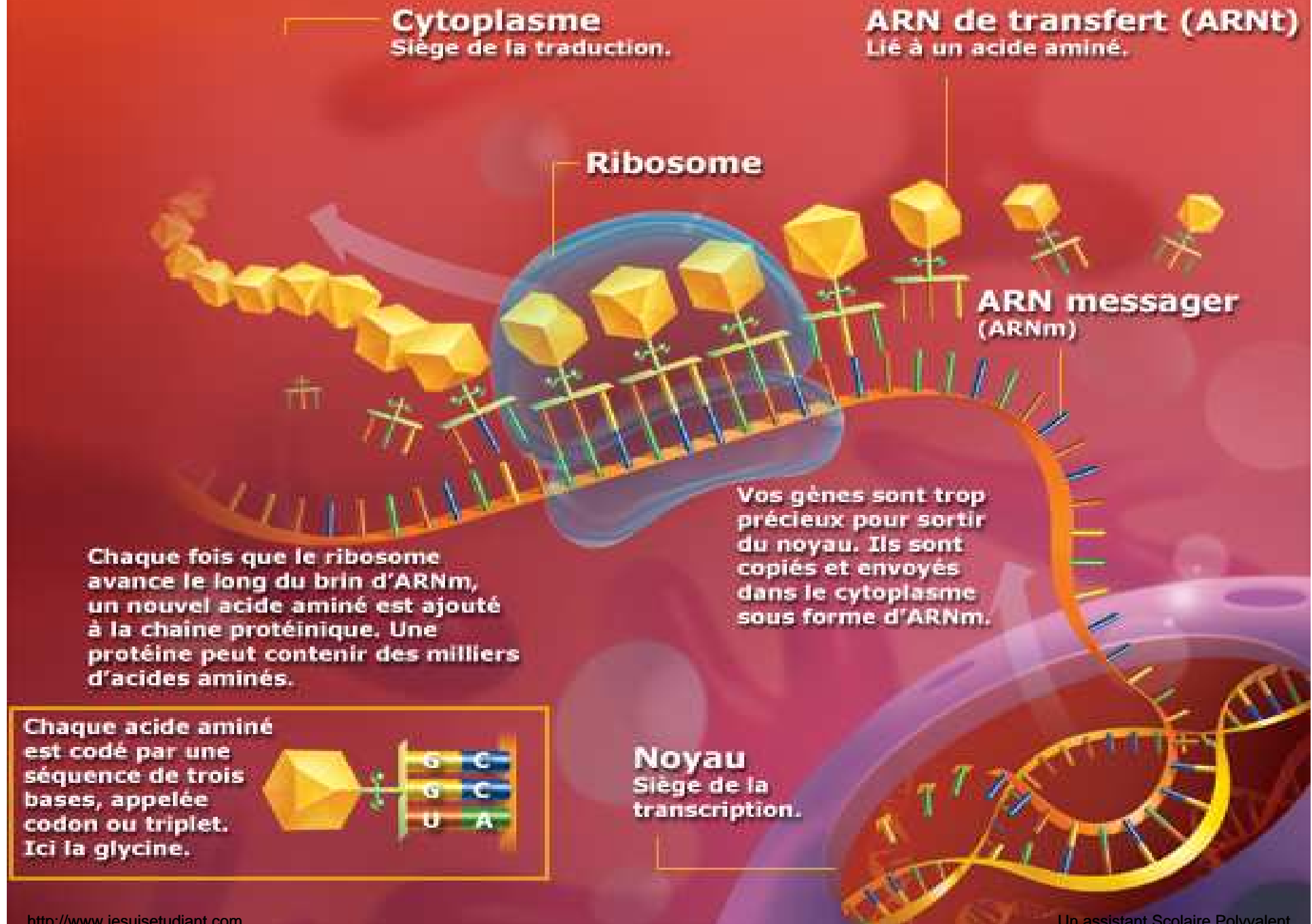
Biosynthèse protéique

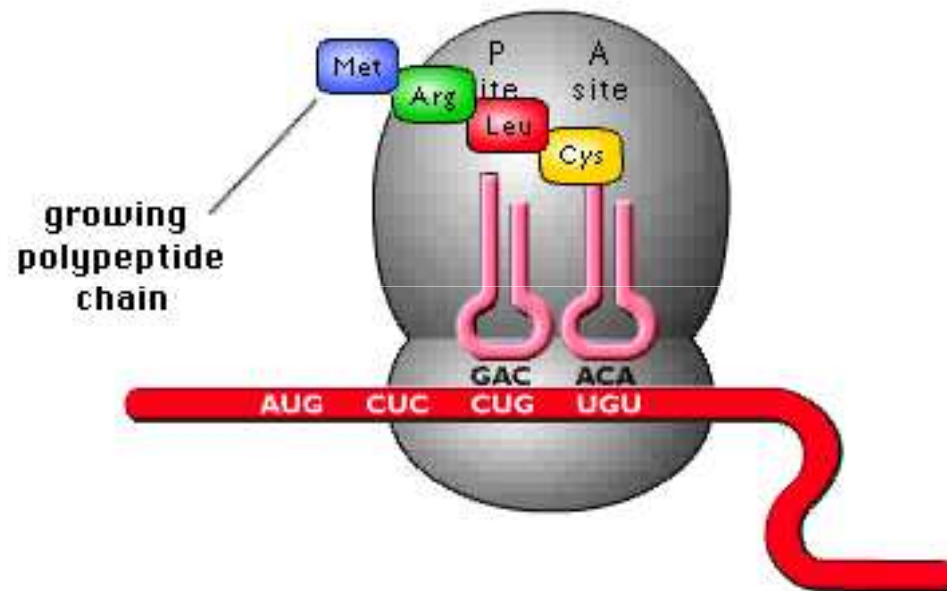
La **synthèse des protéines** comprend deux étapes:

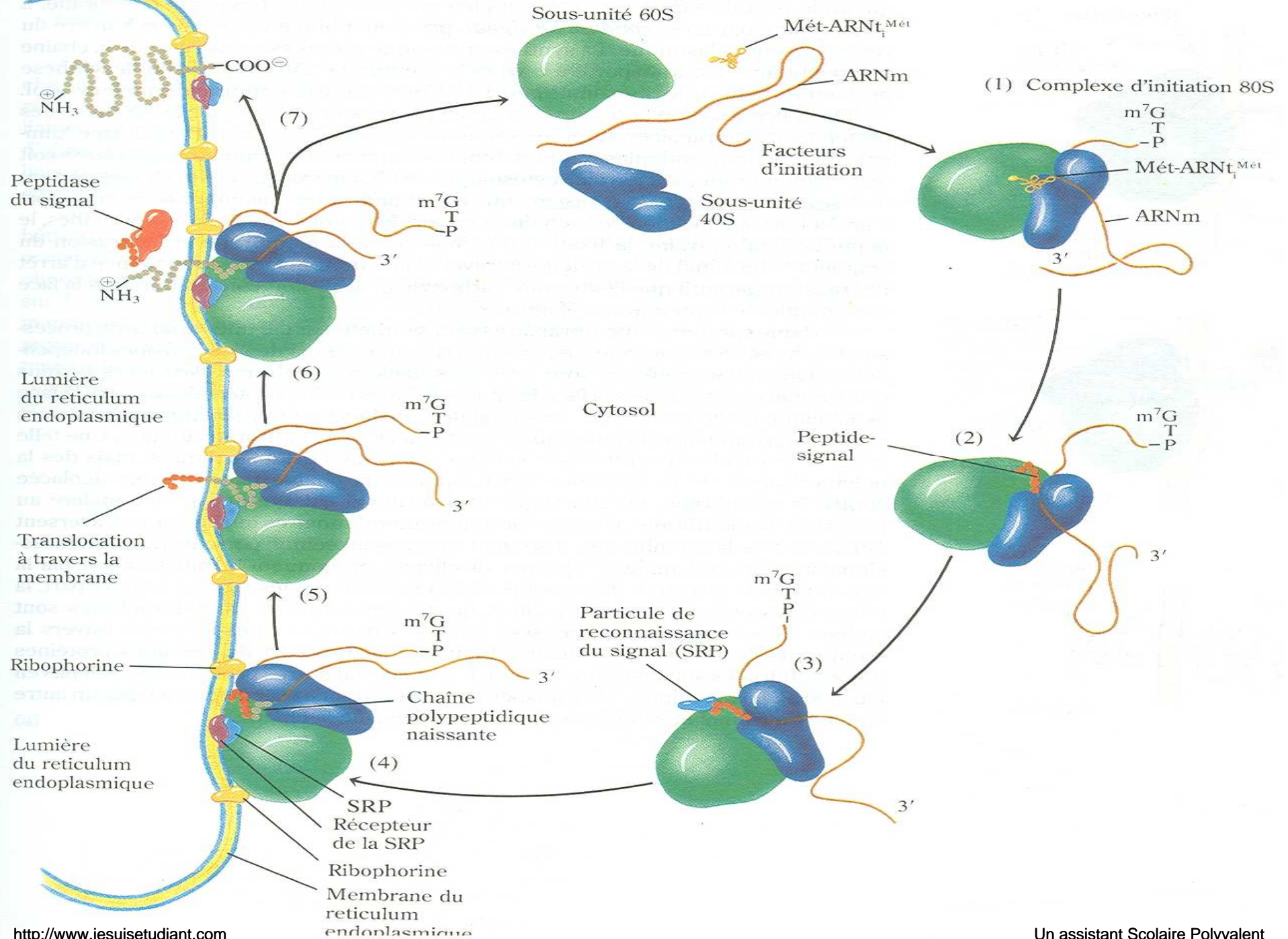


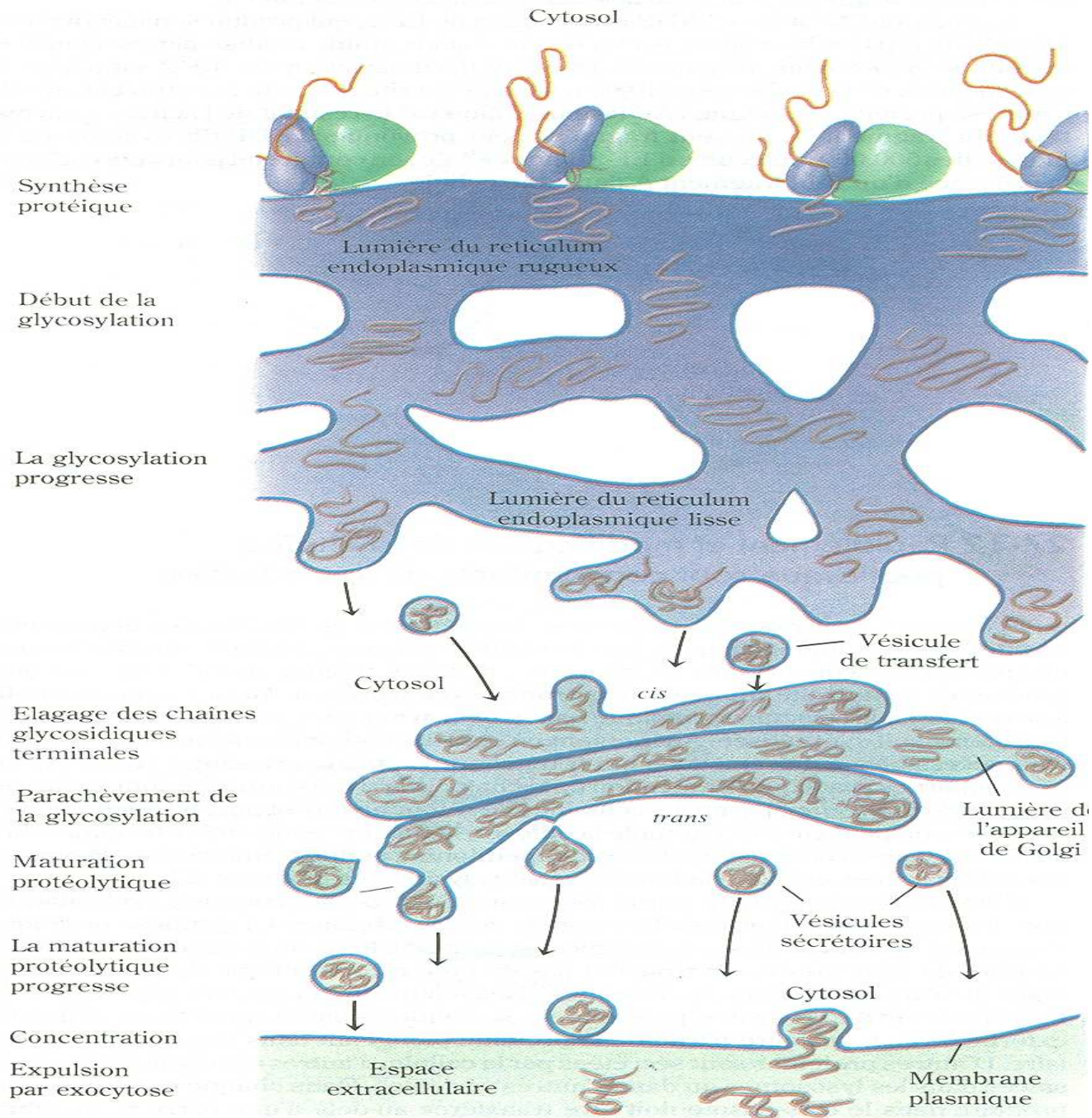
- la **transcription** permet de copier l'**ADN** en **ARNm**. Elle est réalisée grâce à l'**ARN polymérase**.

- la **traduction** correspond au décodage de l'information portée par l'**ARN m** en **protéines**, grâce au **code génétique**










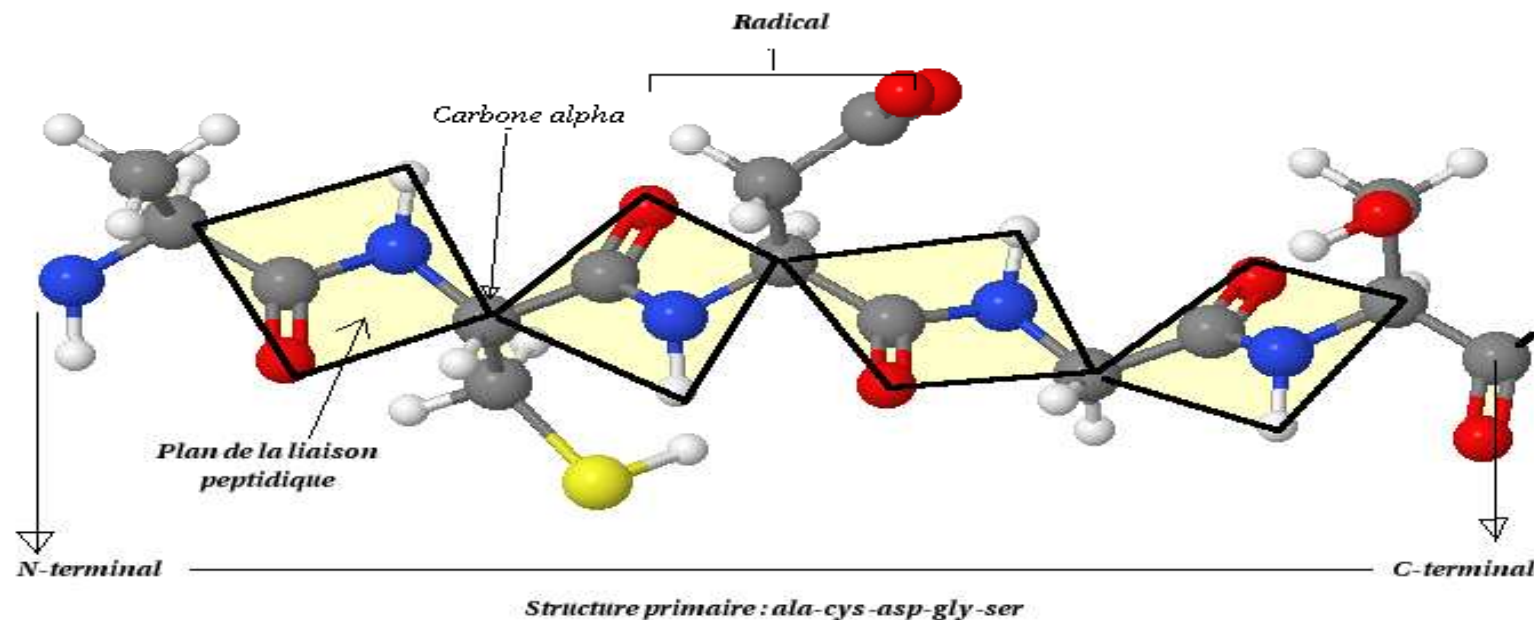
Le code génétique

		Deuxième lettre									
		U		C		A		G			
Première lettre (côté 5')	U	UUU	Phe	UCU	Ser	UAU	Tyr	UGU	Cys	U	Troisième lettre (côté 3')
		UUC	Phe	UCC	Ser	UAC	Tyr	UGC	Cys	C	
		UUA	Leu	UCA	Ser	UAA	Stop	UGA	Stop	A	
		UUG	Leu	UCG	Ser	UAG	Stop	UGG	Trp	G	
	C	CUU	Leu	CCU	Pro	CAU	His	CGU	Arg	U	
		CUC	Leu	CCC	Pro	CAC	His	CGC	Arg	C	
		CUA	Leu	CCA	Pro	CAA	Gln	CGA	Arg	A	
		CUG	Leu	CCG	Pro	CAG	Gln	CGG	Arg	G	
	A	AUU	Ile	ACU	Thr	AAU	Asn	AGU	Ser	U	
		AUC	Ile	ACC	Thr	AAC	Asn	AGC	Ser	C	
		AUA	Ile	ACA	Thr	AAA	Lys	AGA	Arg	A	
		AUG	Met	ACG	Thr	AAG	Lys	AGG	Arg	G	
	G	GUU	Val	GCU	Ala	GAU	Asp	GGU	Gly	U	
		GUC	Val	GCC	Ala	GAC	Asp	GGC	Gly	C	
		GUA	Val	GCA	Ala	GAA	Glu	GGA	Gly	A	
		GUG	Val	GCG	Ala	GAG	Glu	GGG	Gly	G	
		codon d'initiation				codon de terminaison					

Quels sont les différents niveaux
d'organisation d'une structure
protéique ?

Structure primaire ou séquence de la protéine

La structure primaire d'une protéine correspond à l'ordre d'**enchaînement** des acides aminés, la séquence commence par l'**AA N⁺** et se termine par l'**AA C⁺**, cette succession correspond au sens de la **traduction** de la protéine.



Les AA sont reliés entre eux par des **liaisons peptidiques covalentes**, formant des **plans successifs** et dont la disposition les uns par rapport aux autres donnera la structure de la protéine dans l'espace.

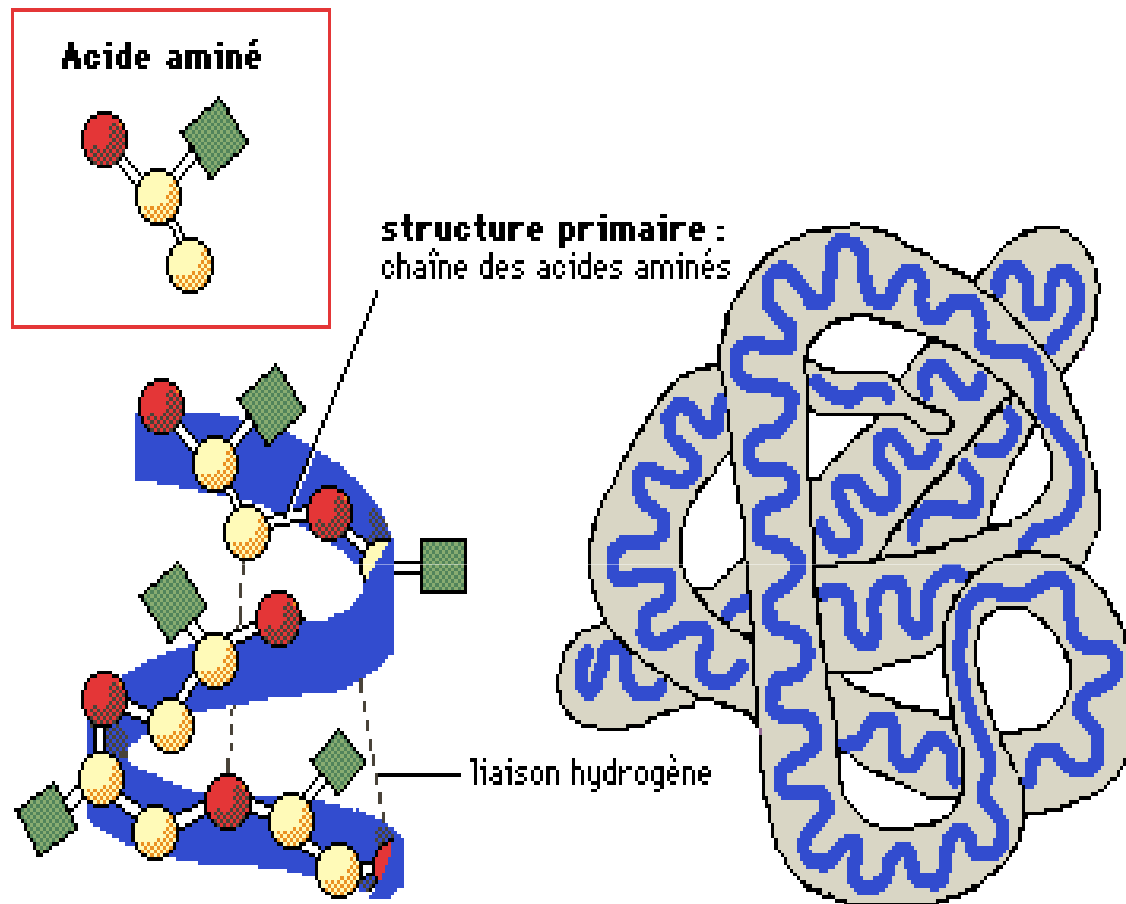
Structure tridimensionnelle des protéines

A-Structure conformationnelle :

La structure secondaire : forme de la chaîne peptidique possédant des liaisons **non covalentes**.

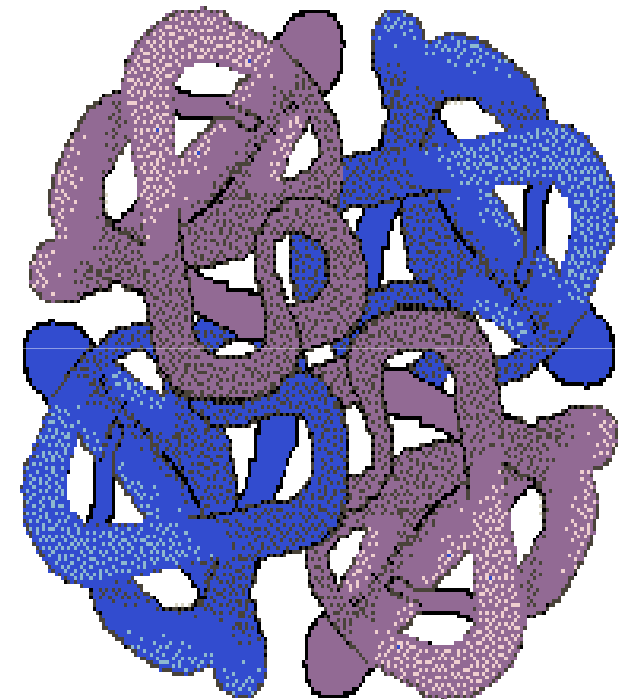
La structure tertiaire : forme de l'ensemble de la chaîne peptidique avec ses repliements éventuels.

La Structure quaternaire : géométrie de l'association des différentes chaînes entre elles .



Une protéine adopte sa **structure secondaire** lorsque des acides aminés voisins dans la chaîne (structure primaire) forment entre eux des liaisons hydrogène.

La **structure tertiaire**, à trois dimensions, de la protéine résulte de l'interaction entre les acides aminés en différents points de la structure secondaire en spirale.



Lorsque deux ou plusieurs chaînes de structure tertiaire s'associent pour former une molécule de grande taille, la protéine a une **structure quaternaire**.

Les interactions protéiques

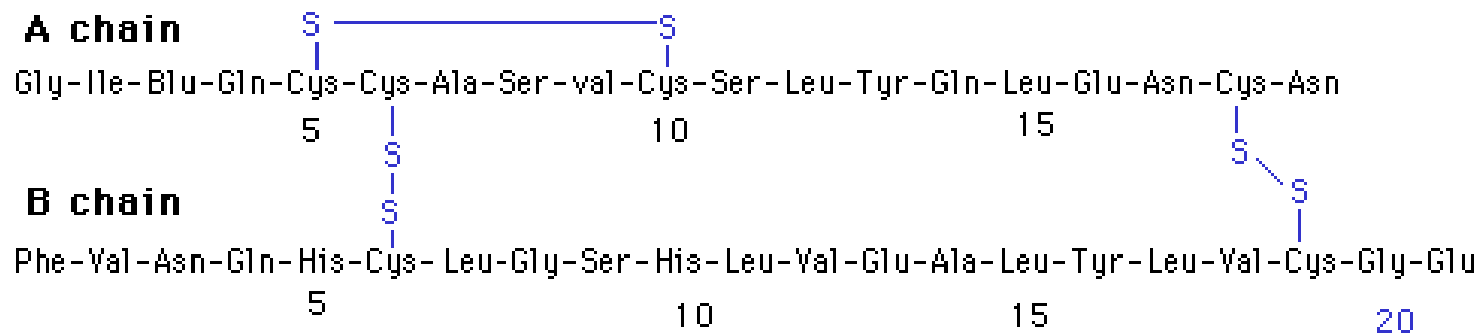
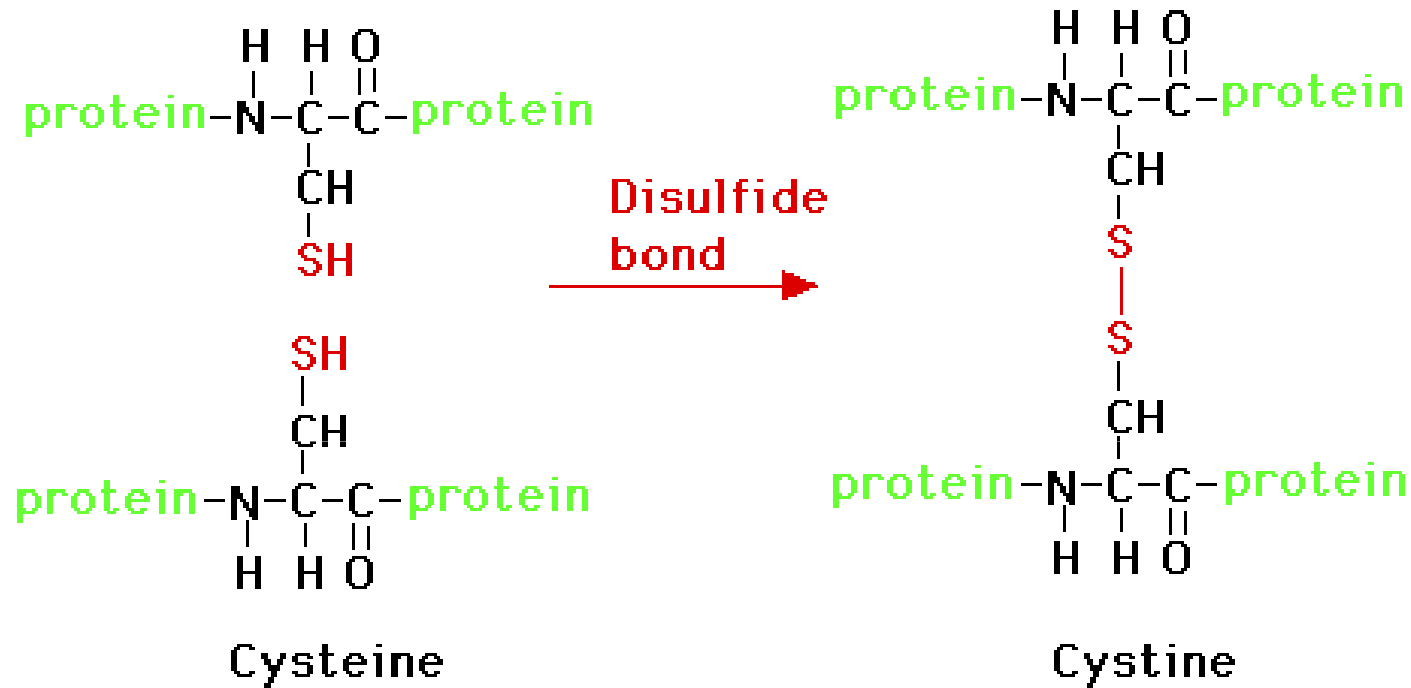
-Liaisons hydrophobes: Les AA hydrophobes ont plus d'affinité entre eux, (interactions de Van der Waals).

-Liaisons ioniques: Les radicaux qui s'ionisent positivement forment des liaisons ioniques avec ceux qui s'ionisent négativement.

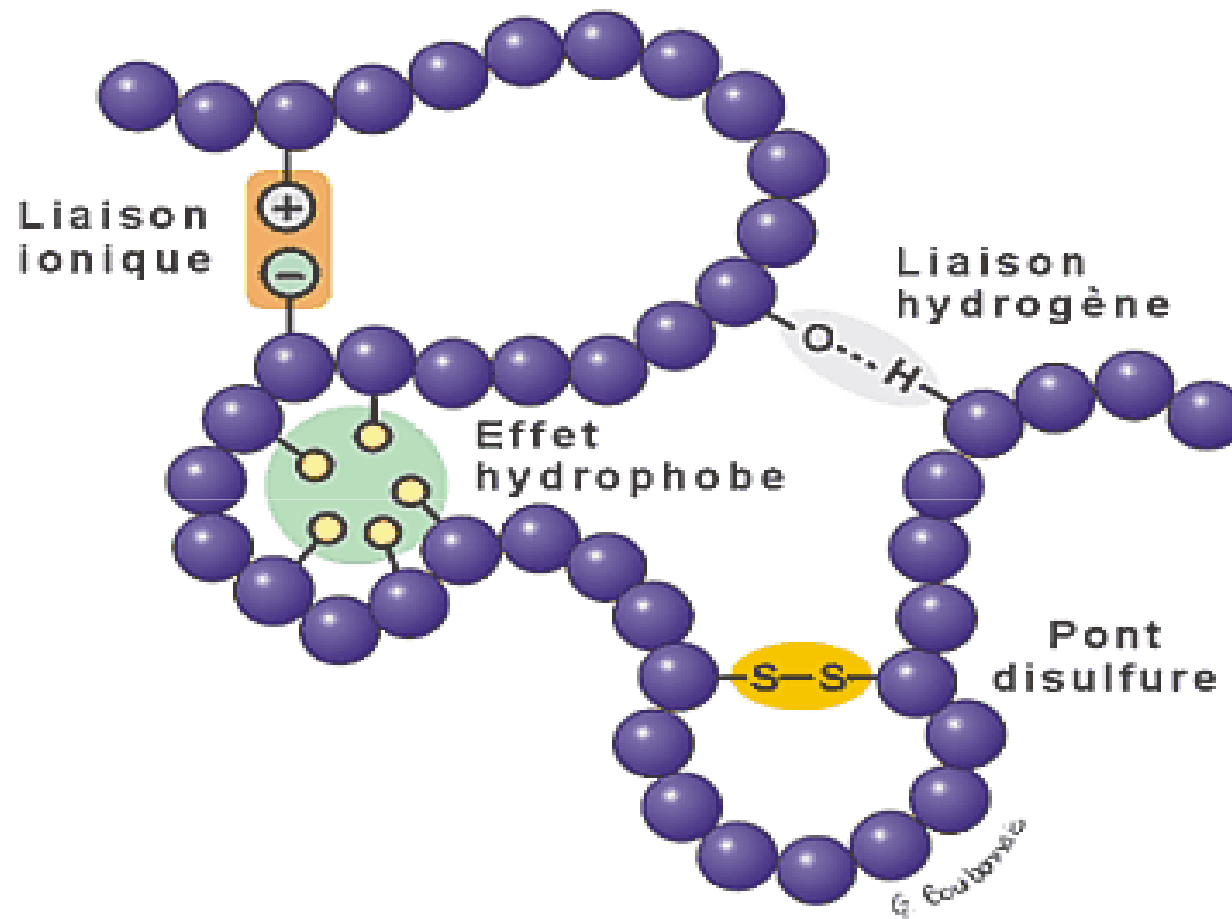
-Liaisons hydrogènes: des liaisons « *intra-moléculaires* » entre C=O et N-H peptidiques.

-Les ponts disulfure: liaison covalente entre 2 Cys par l'atome de soufre.

Pont disulfure



Quatre grands types d'interactions interviennent dans le repliement de la chaîne:



La structure primaire d'une protéine détermine sa structure tertiaire.

B- Structures ordonnées

Deux types principaux de **structure ordonnée** :

L'hélice alpha

La chaîne AA prend la forme d'un **tire-bouchon**. Les différentes spires sont stabilisées par des **liaisons hydrogènes**.

Le feuillet bêta

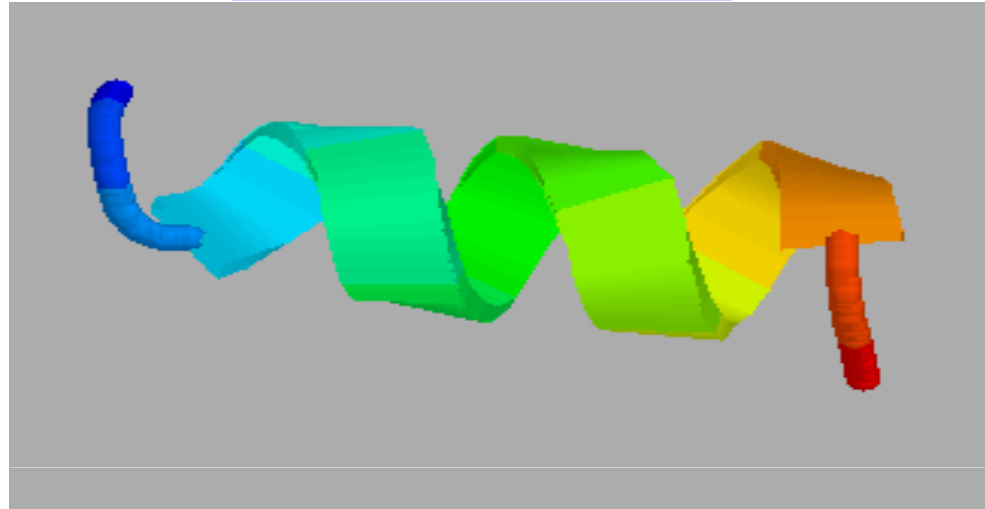
Il se forme des **liaisons hydrogène** entre certains AA de la chaîne disposés **parallèlement** les uns par rapport aux autres, ou d'une façon **antiparallèle**.
(**membrane plissée**).

Le coude bêta

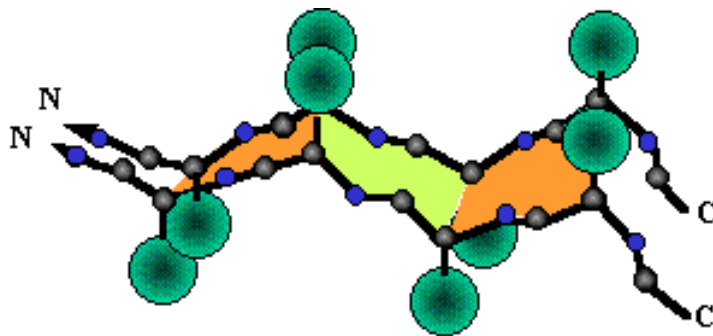
Chaînes peptidiques repliée sur elles mêmes de façon **antiparallèle**, une telle conformation est stabilisée par des **liaisons hydrogènes**.

Structure secondaire des protéines

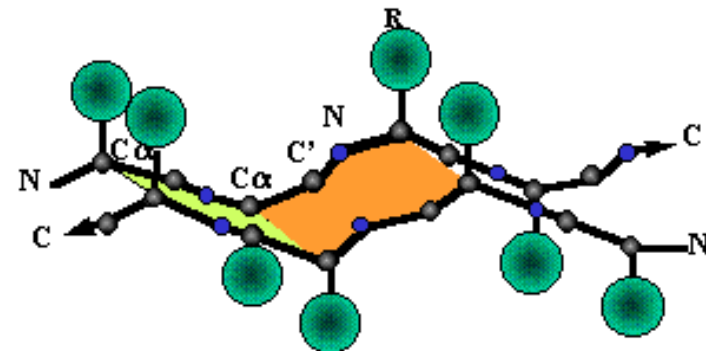
Chaîne α Hélice



Chaîne β

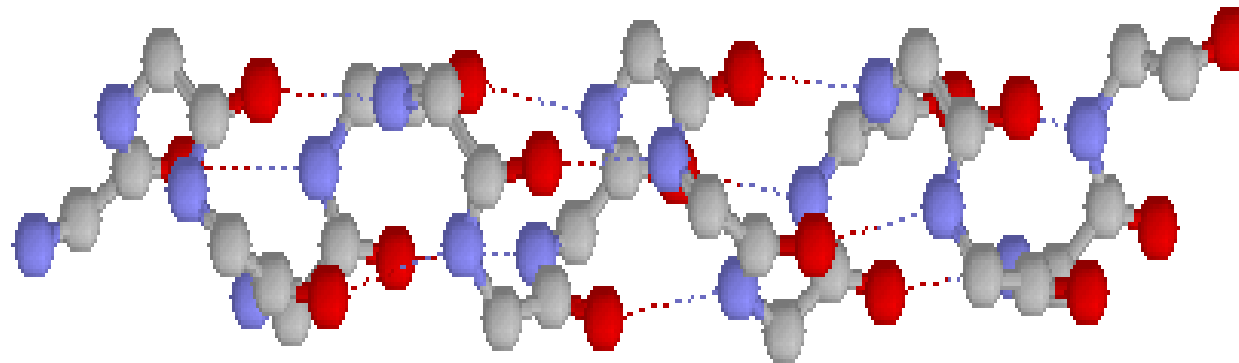


Feuillet parallèle

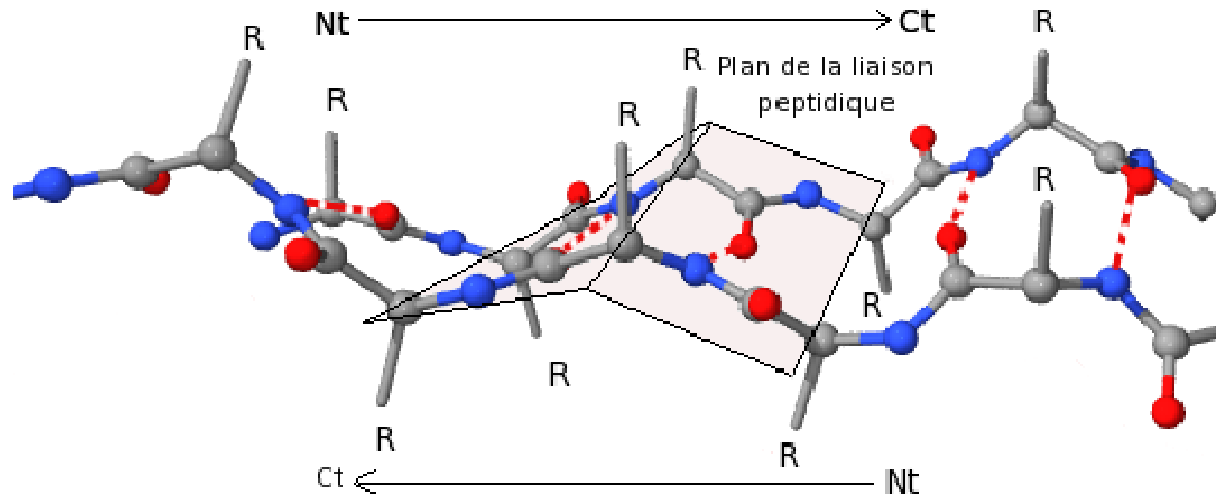


Feuillet antiparallèle

Des liaisons hydrogènes stabilisent l'hélice α et le feuillet β

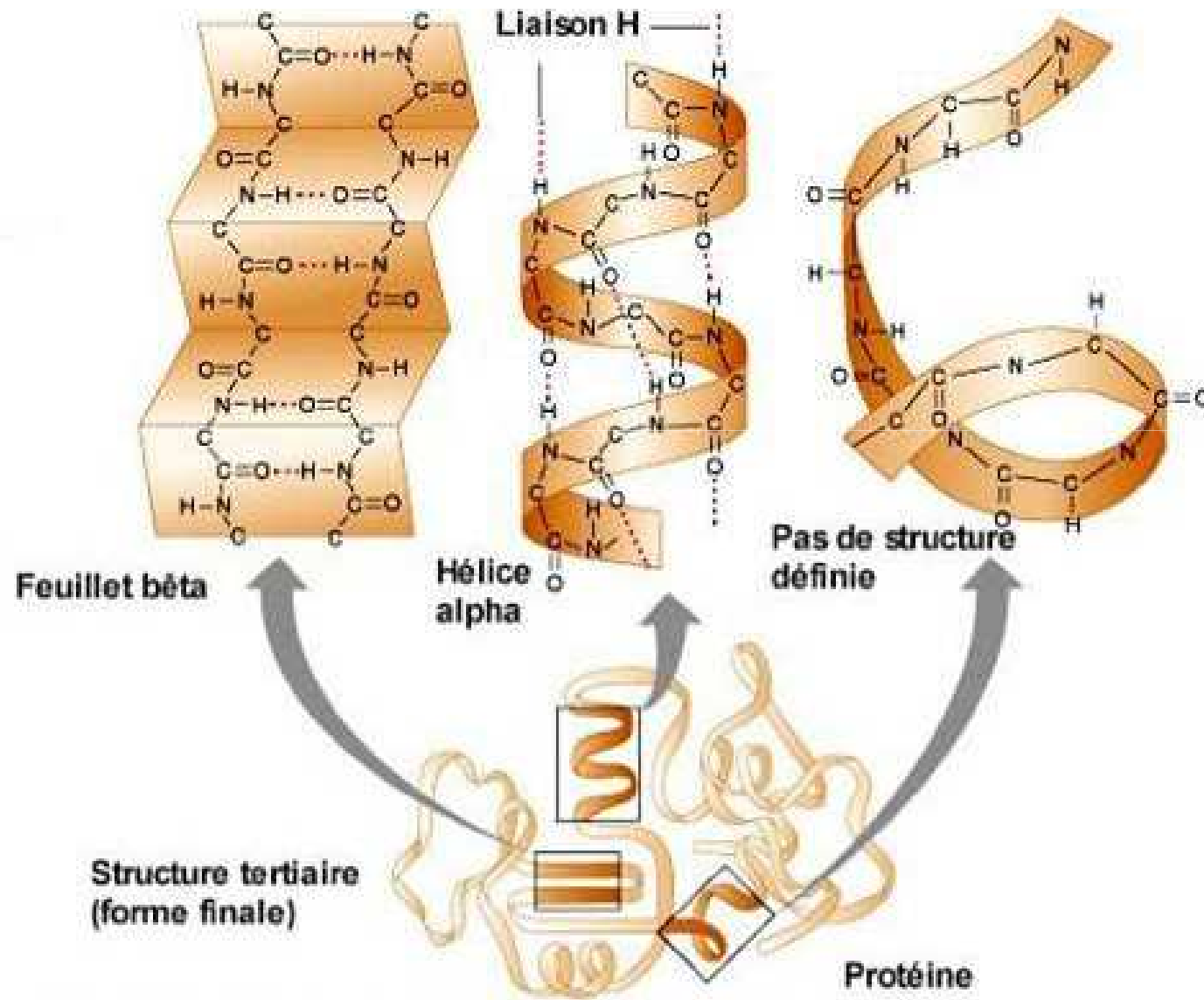


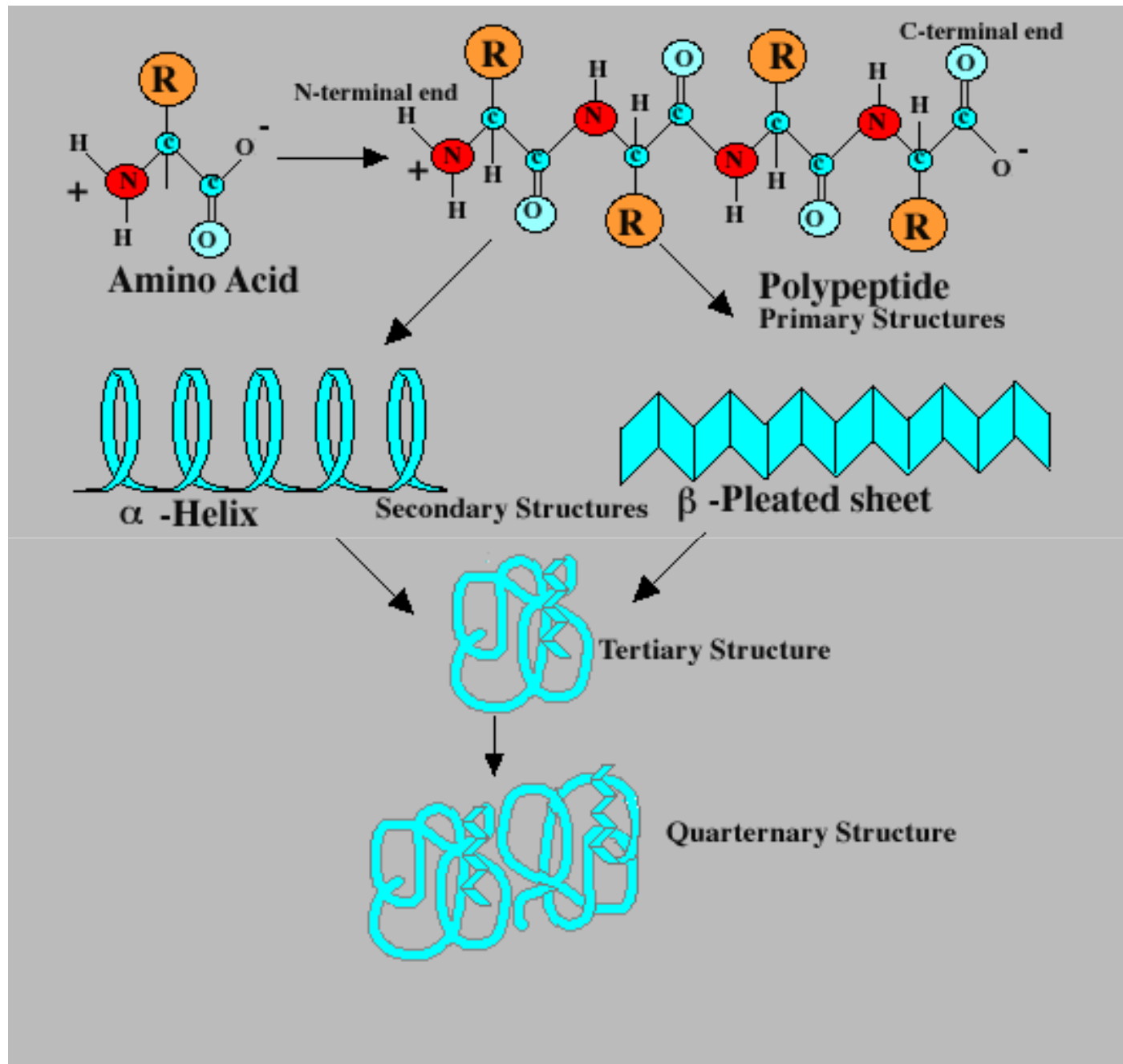
l'hélice α



feuillet β

la structure tridimensionnelle finale qu'adopte la chaîne d'AA, constitue la structure tertiaire de la protéine.





C- Hiérarchie dans la conformation des protéines

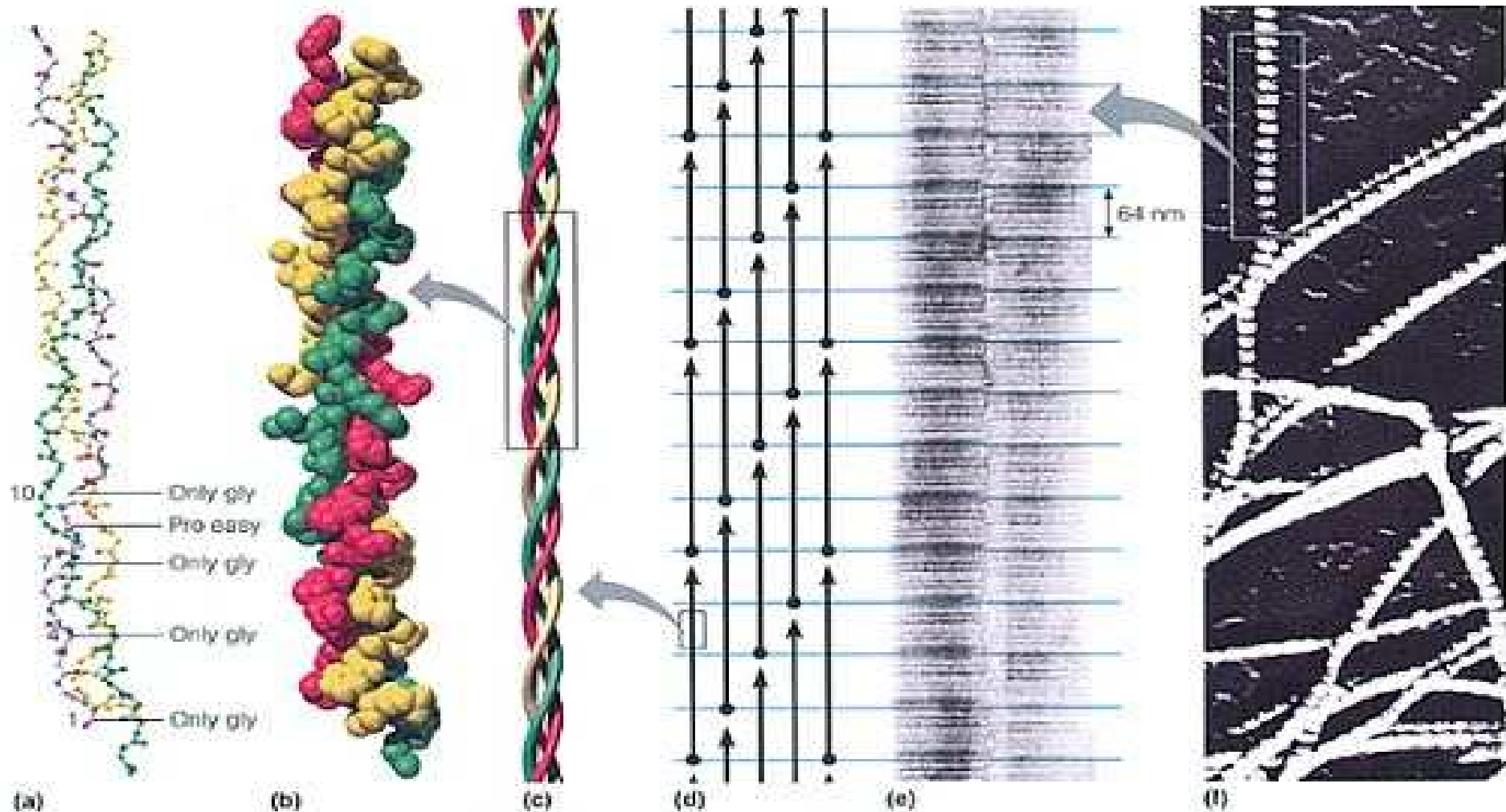
Les protéines fibreuses:

Le collagène: Le *derme* de la peau est formé d'un dense treillis de fibres de collagène

La kératine : Les ongles, la couche cornée de la peau, la corne des animaux, les cheveux, les poils et les plumes sont toutes des structures essentiellement constituées de kératine.

Le cytosquelette: il forme l'armature de la cellule, il est constitué de trois types de fibres de protéines: les microtubules, les microfilaments et les filaments intermédiaires.

Le collagène



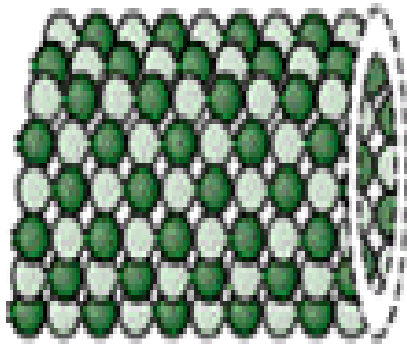
Chaque molécule de collagène est formée d'une hélice alpha. Des ponts disulfure relient ces hélices trois à trois (a, b et c). Les groupes de trois sont reliés entre eux pour former de grosses fibres (d) très résistantes visibles au microscope électronique (e et f).

La kératine



La kératine est semblable au collagène. Elle est formée de fibrilles constituées de trois hélices alpha reliées entre elles par des ponts disulfure

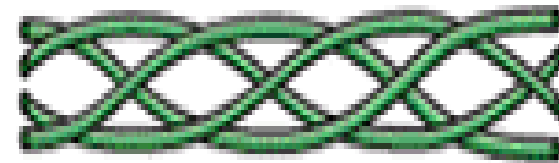
Le cytosquelette



Microtubule



Microfilament



Filament intermédiaire

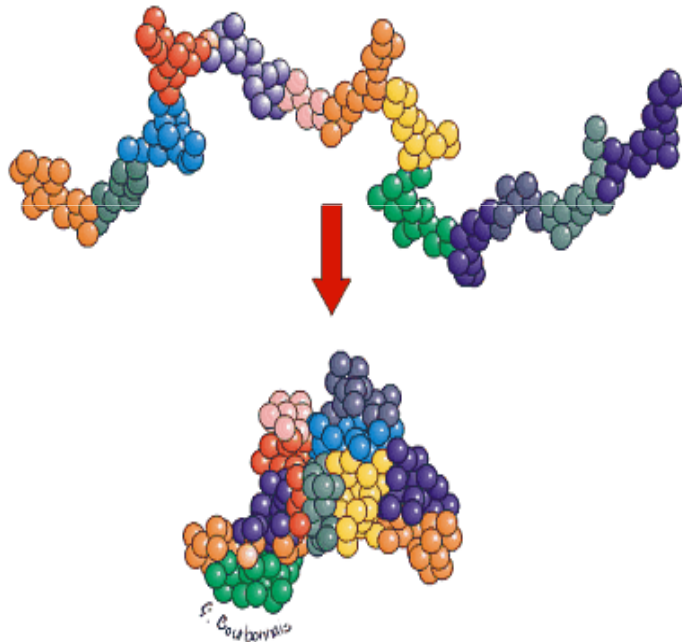
Le cytosquelette est responsable de la forme particulière de chaque cellule, de sa résistance aux tensions et des mouvements qu'on y observe parfois.

Le cytosquelette est constitué de trois types de fibres de protéines: les microtubules, les microfilaments et les filaments intermédiaires

Les protéines globulaires:

Coexistence de structures **ordonnées** et **non ordonnées** qui donne un repliement de la chaîne polypeptidique sur elle-même.

Le lysozyme : formé de zones non ordonnées, 3 segments d'hélice α et 2 segments de feuillet β .



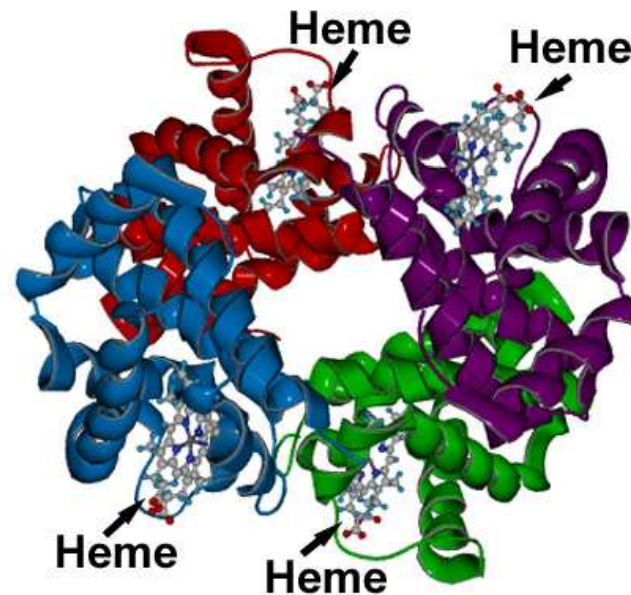
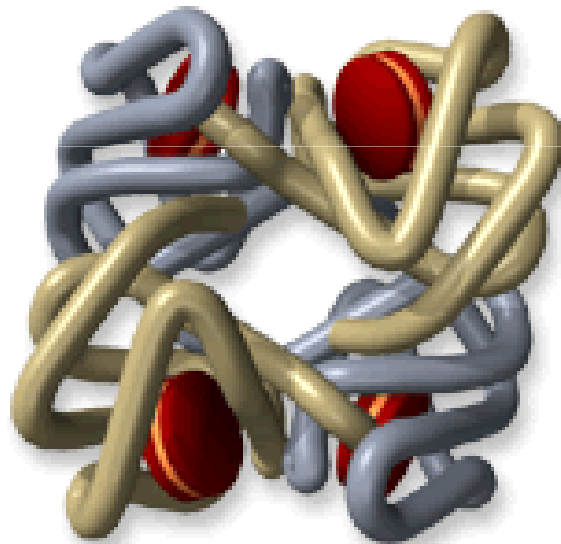
La chaîne d'AA formant le lysozyme se replie pour former une structure plus compacte bien précise

La myoglobine : formée de 8 segments d'hélice α séparés par des structures non ordonnées.

Structure quaternaire des protéines globulaires

Des protéines globulaires: formées de SU ou protomères ou domaines, associées entre eux par des liaisons secondaires.

l'hémoglobine: transport de l'oxygène dans le sang



L'hémoglobine est formée de 2 chaînes α et de 2 chaînes β . Les hèmes contenant chacun un atome de fer sont représentés par les disques rouges.

Propriétés physiques et chimiques des protéines

Les protéines sont des substances de masse moléculaire élevée; on distingue :-les holoprotéines : AA uniquement.

-les hétéroprotéines : en plus des AA , un groupement de nature non protidique.

A- Caractère de solubilité

La plus part des protéines sont solubles en milieu aqueux, la solubilité dépend du:

- pH : la protéine est moins soluble au voisinage de son pHi.

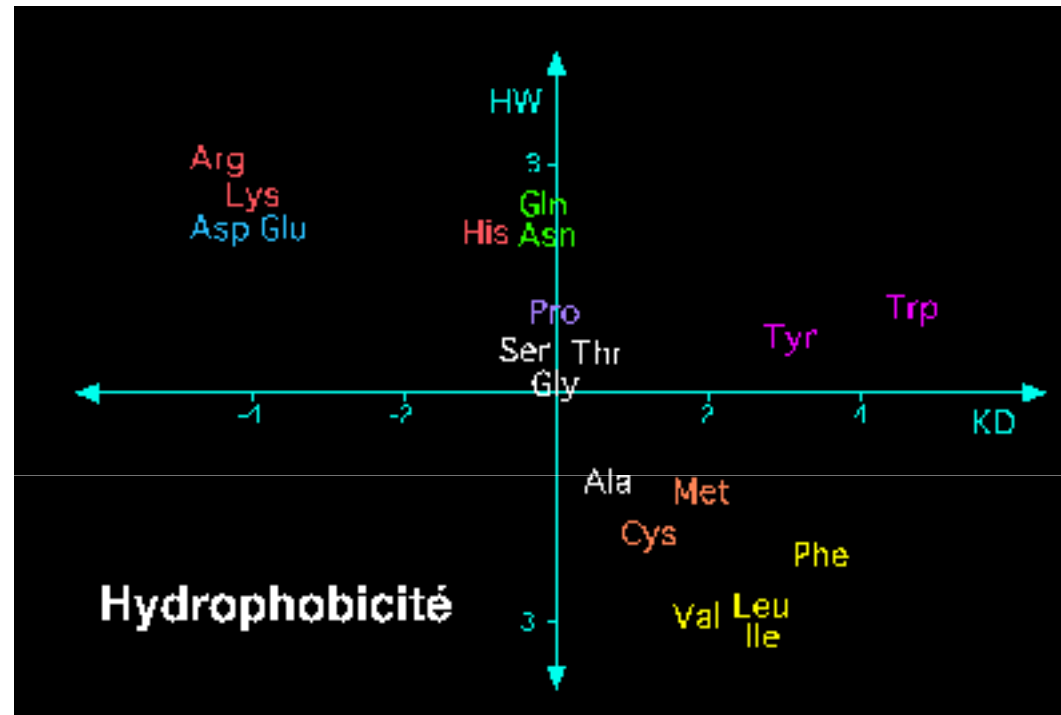
- force ionique : Le sulfate d'ammonium augmente la force ionique

- solvants organiques : les solvants organiques miscibles à l'eau ont un effet précipitant sur les protéines, en diminuant leur solubilité , ex éthanol)

Les protéines solubles sont les protéines globulaires.

Les protéines insolubles dans l'eau, sont les scléroprotéines.

un indice d'hydrophilie

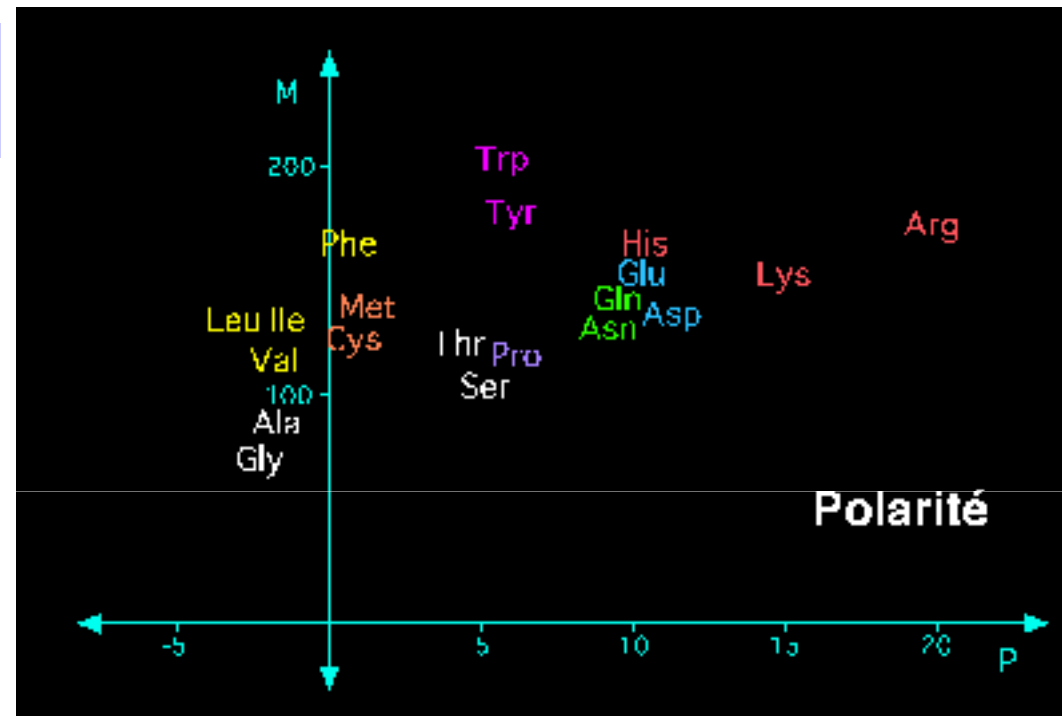


un indice
d'hydrophobie

Le caractère **hydrophobe** ou **hydrophile** des radicaux des acides aminés qui constituent les protéines repose sur la possibilité pour les atomes de ces radicaux d'échanger des **liaisons non covalentes** avec l'eau qui entoure la protéine.

B- Propriétés ioniques d'une protéine

la masse
moléculaire



un indice de
polarité

Le caractère **amphotère** des radicaux des **AA ionisables** qui constituent les protéines est très important pour la **structure** et les **fonctions** de ces radicaux dans les domaines de la protéine. On peut déterminer la charge globale d'une protéine à n'importe quel pH en calculant la charge de chaque **AA ionisable** qui la compose .

C- Dosage colorimétrique

La réaction au **Biuret** est obtenue par toutes les protéines et peut servir à leur **dosage colorimétrique**, la méthode de **Lowry** est beaucoup plus sensible: elle combine la réaction du biuret à la réduction par les phénols (**réactif de Folin**).

La plus part des protéines absorbent la lumière UV à DO **280nm**, Cette absorption est en relation avec la Tyrosine et le Tryptophane de la protéine. La mesure de la DO à **280 nm** peut servir au dosage des protéines

E- Dénaturation des protéines

Les liens protéiques peuvent se défaire, aboutissant à une structure désordonnée : C'est la **dénaturation**, elle est due :

La chaleur: l'agitation thermique peut briser les liaisons hydrogène.

Un pH extrême: milieu trop acide ou trop alcalin.

Un milieu très concentré en électrolytes: ions.

Les solvants organiques.

Certaines **substances chimiques** peuvent aussi réagir avec la protéine et briser les liaisons ioniques ou même les ponts disulfures.

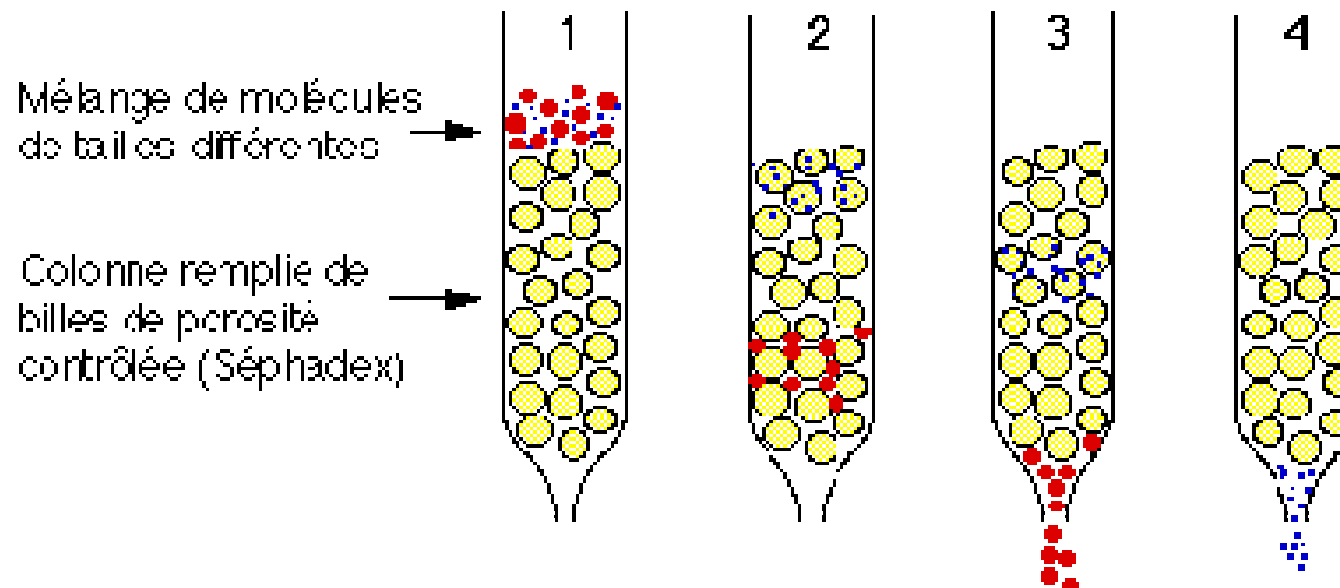
Fractionnement des protéines

A- Purification des protéines

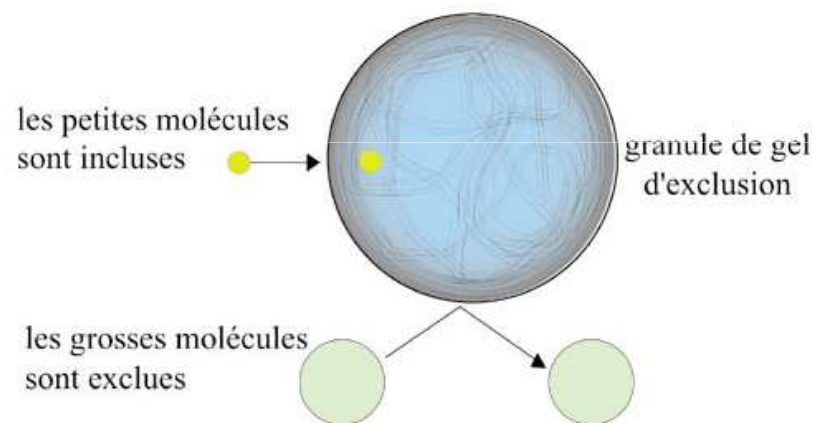
Par **ultracentrifugation** ($65.000\text{t}/\text{mn}$) , cette séparation sera fonction du PM.

B- Extraction des protéines

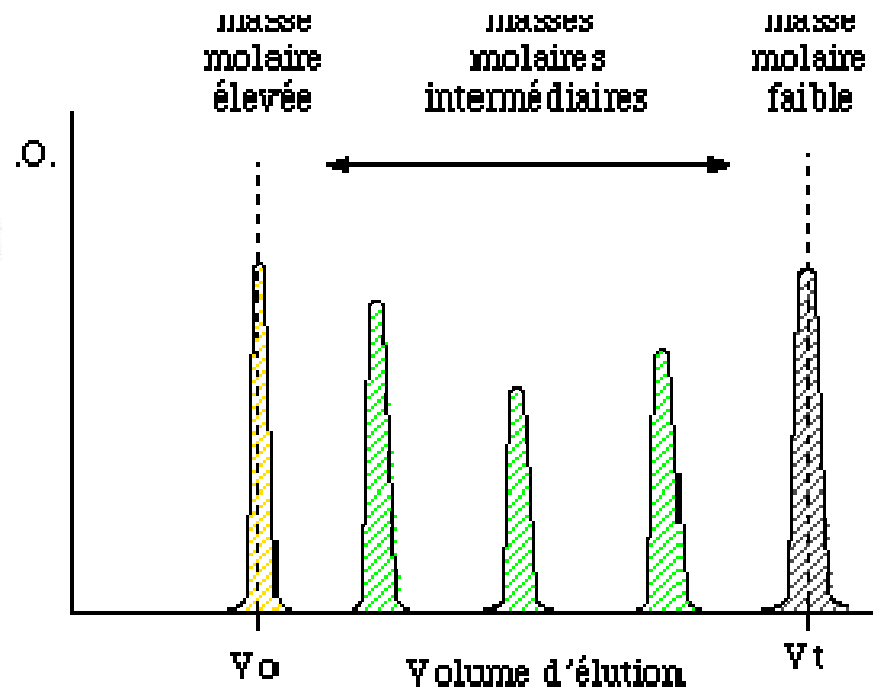
1- Par gel filtration ou tamisage moléculaire sur colonne de chromatographie formée par un gel de séphadex .



Les grosses molécules sont exclues du gel (d'où le nom de chromatographie d'exclusion).



Propriétés d'un gel d'exclusion

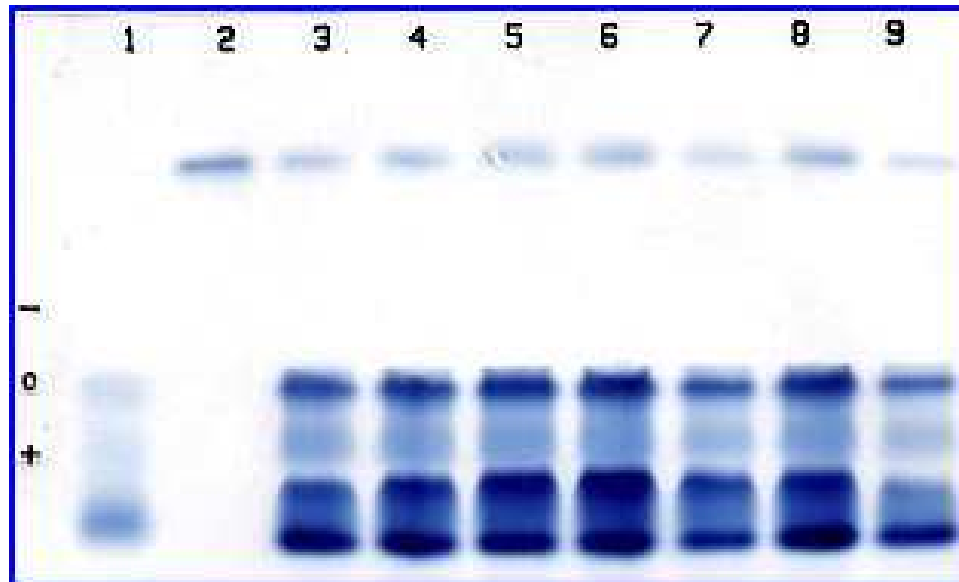


Profil d'élution

2- Électrophorèse sur gel de polyacrylamide

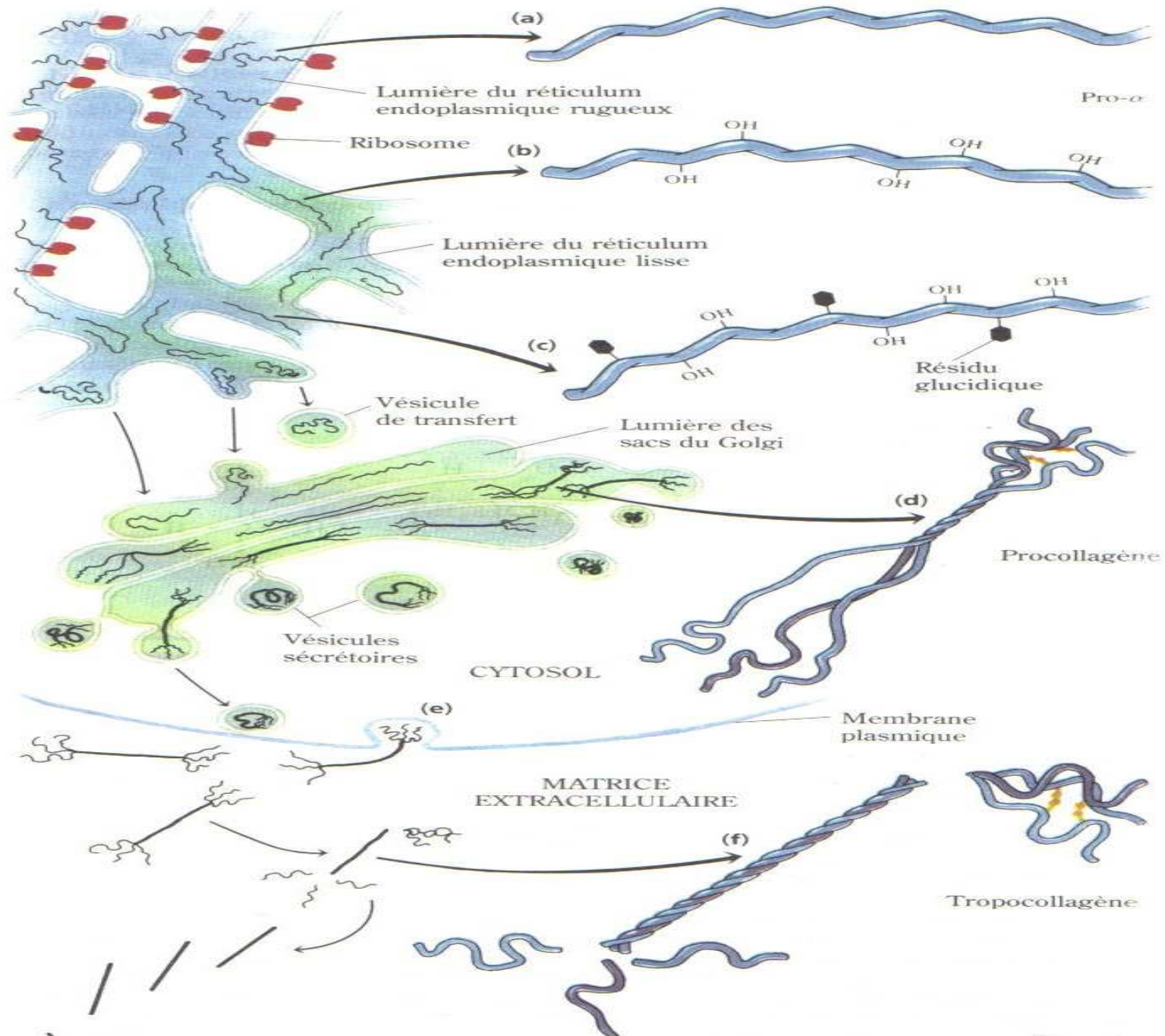
Le polyacrylamide est un gel finement réticulé, formé d'acrylamide ($\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CO}-\text{NH}_2$), qui polymérise en donnant des chaînes linéaires, et du bis-acrylamide ($\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CO}-\text{NH}-\text{CO}-\text{CH}=\text{CH}_2$) qui forme des ponts entre les chaînes; on obtient ainsi un réseau, dont les mailles sont de taille variable. La vitesse de migration sera fonction de la **masse moléculaire**. (les petites molécules migrent plus vite par rapport aux grosses molécules)

En présence de Sodium dodécylsulfate (SDS), détergent anionique qui dissocie les polymères de protéines, en tapissant chaque SU de (SO_3^-)



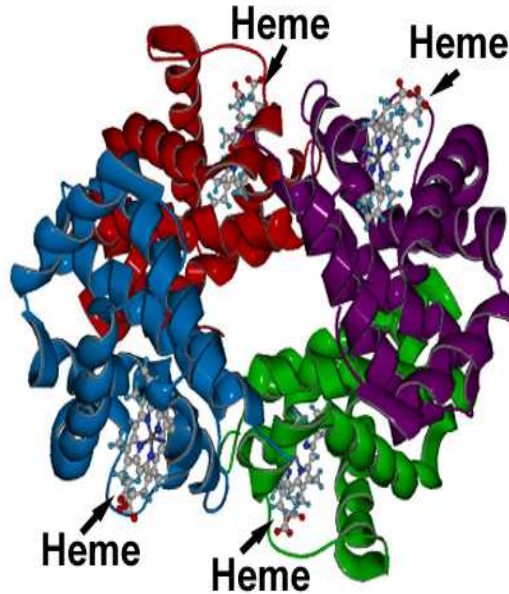
Relation structure fonction

Synthèse et sécrétion d'une protéine fibreuse: Le collagène

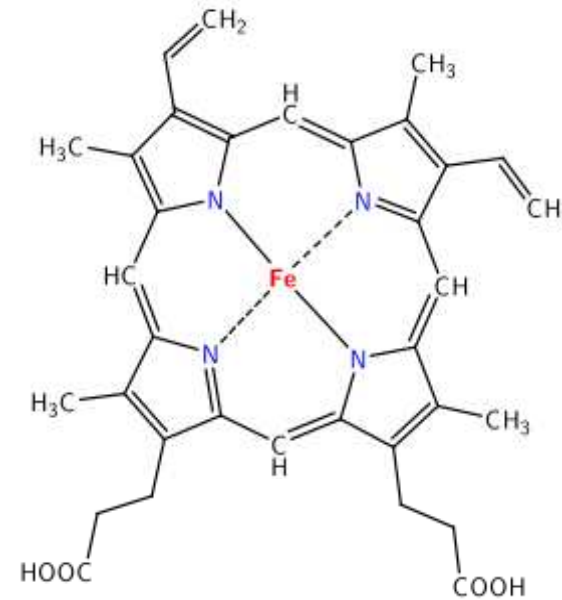


Les transporteurs protéiques

L'hémoglobine : est une protéine métallique contenant du fer dont la principale fonction est le transport de l'oxygène à l'intérieur des globules rouges dans le sang.



Structure de l'hémoglobine



Un hème: porphyrine-fer

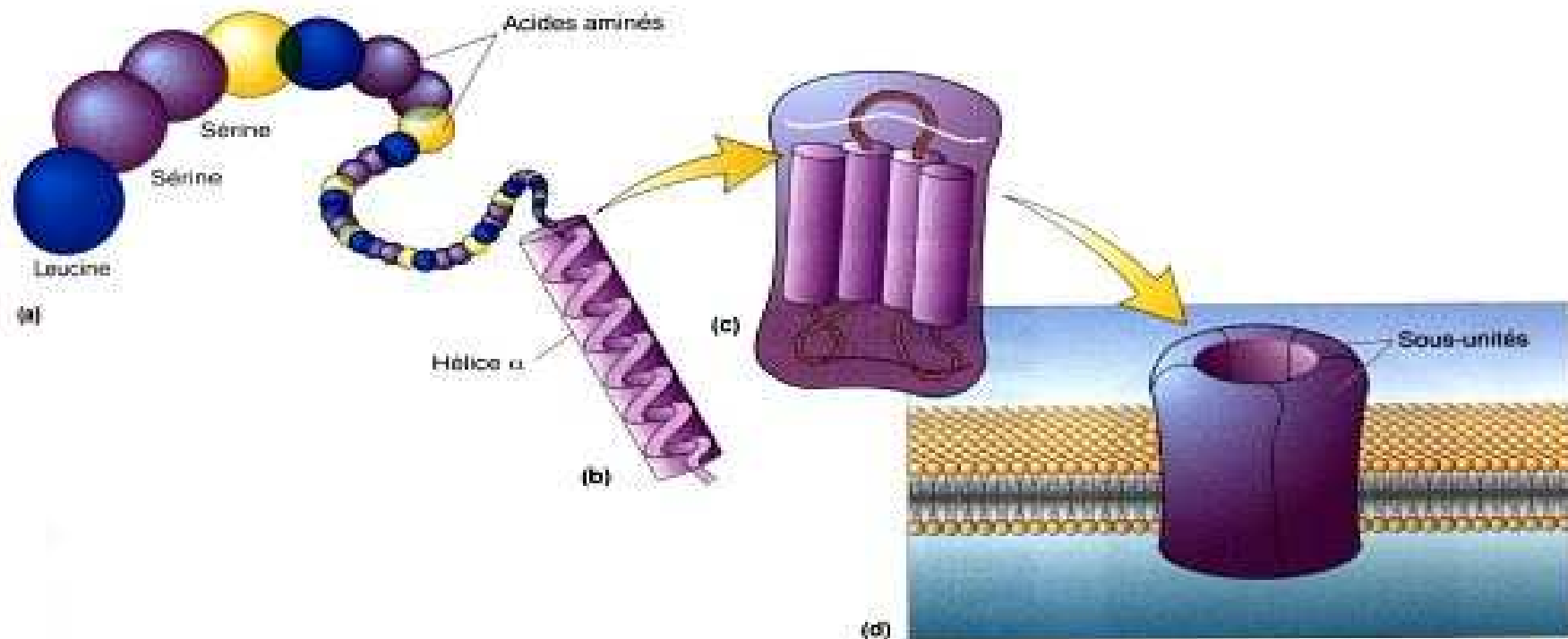
L'hémoglobine est un **tétramère**: 2SU α et 2 SU β , pour une masse totale ~64 000 .

Au cœur de chaque globine se trouve un cycle hétérogène :porphyrine qui contient un atome de fer qui fixe l'oxygène.

La capacité totale de liaison de l'hémoglobine pour l'oxygène est de quatre molécules.

Transport membranaire

De nombreuses substances chimiques traversent la membrane en passant par de **petits canaux** faits de **protéines**.

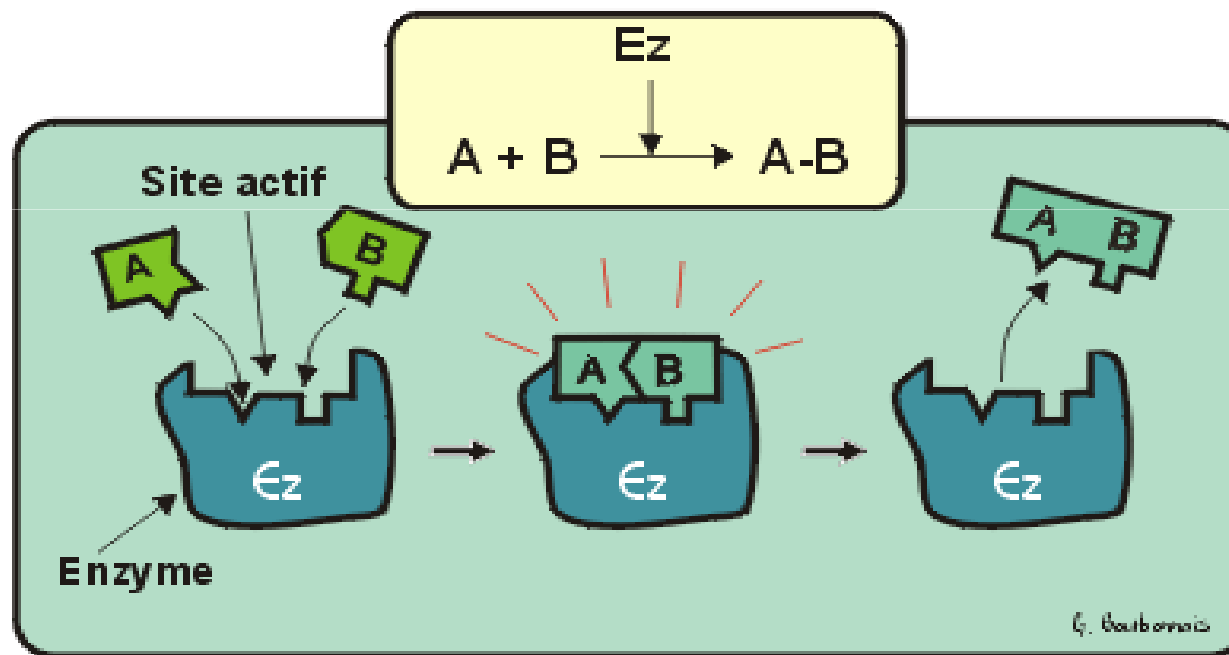


Canal protéique traversant la membrane de la cellule. le canal est formé de 5 SU chacune formée d'un assemblage d'hélices alpha.

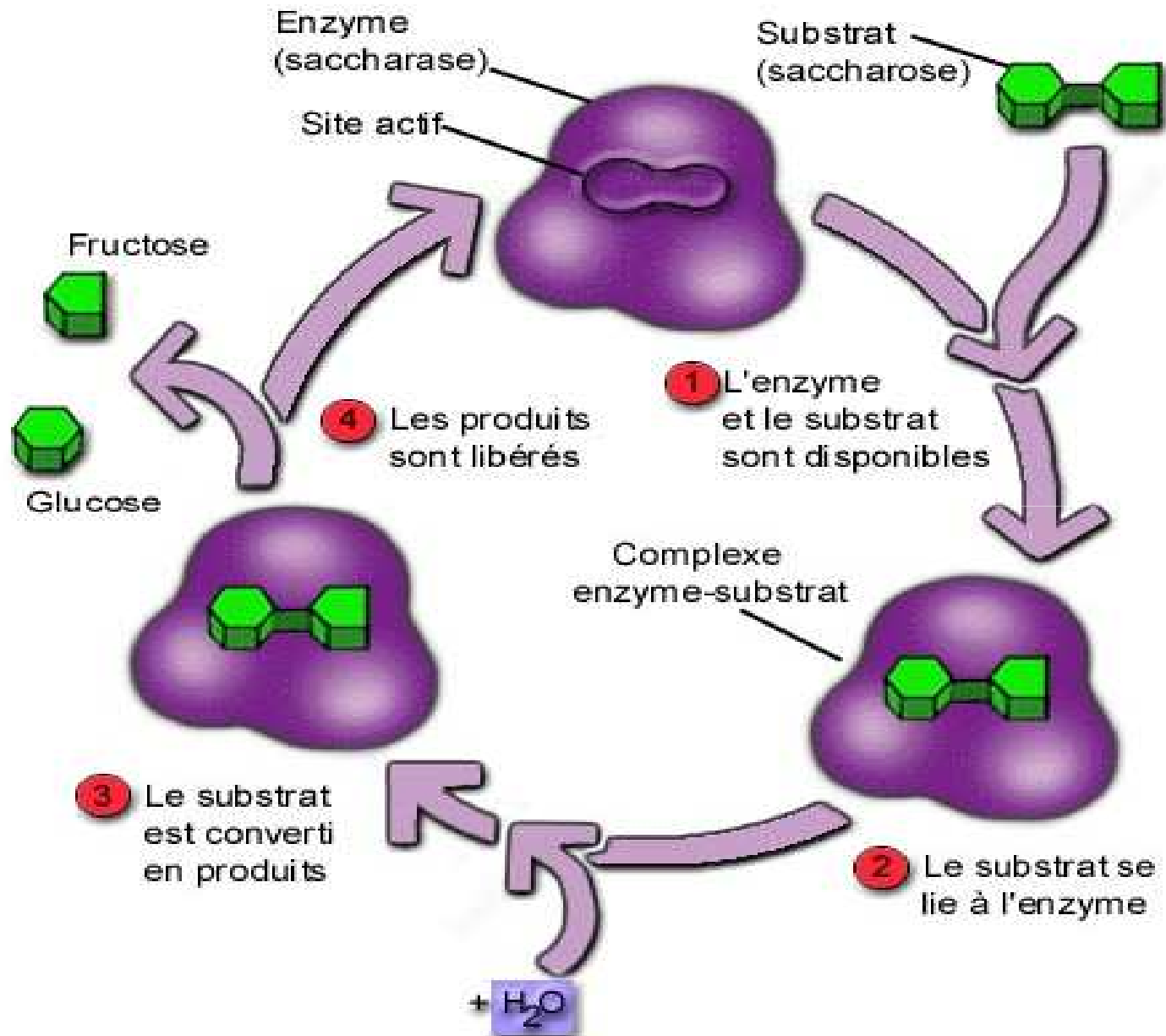
Les enzymes

Les enzymes

La plus part des réactions chimiques qui se déroulent dans la cellule sont **catalysées** par des protéines spéciales: **les enzymes**.



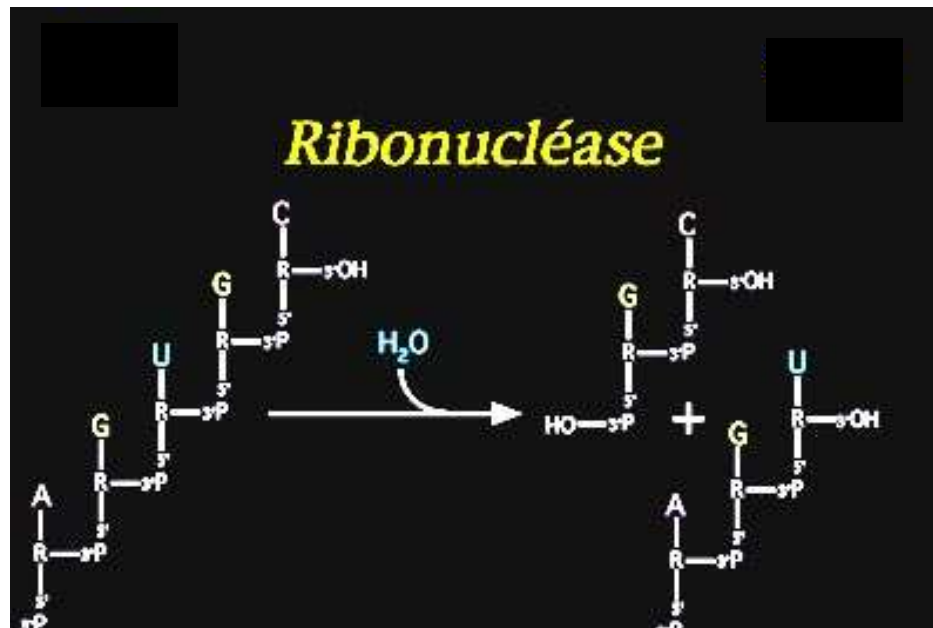
L'enzyme catalyse une réaction chimique au cours de laquelle une **molécule A** se lie à une **molécule B** pour former la molécule **AB**.



Mode d'action des enzymes

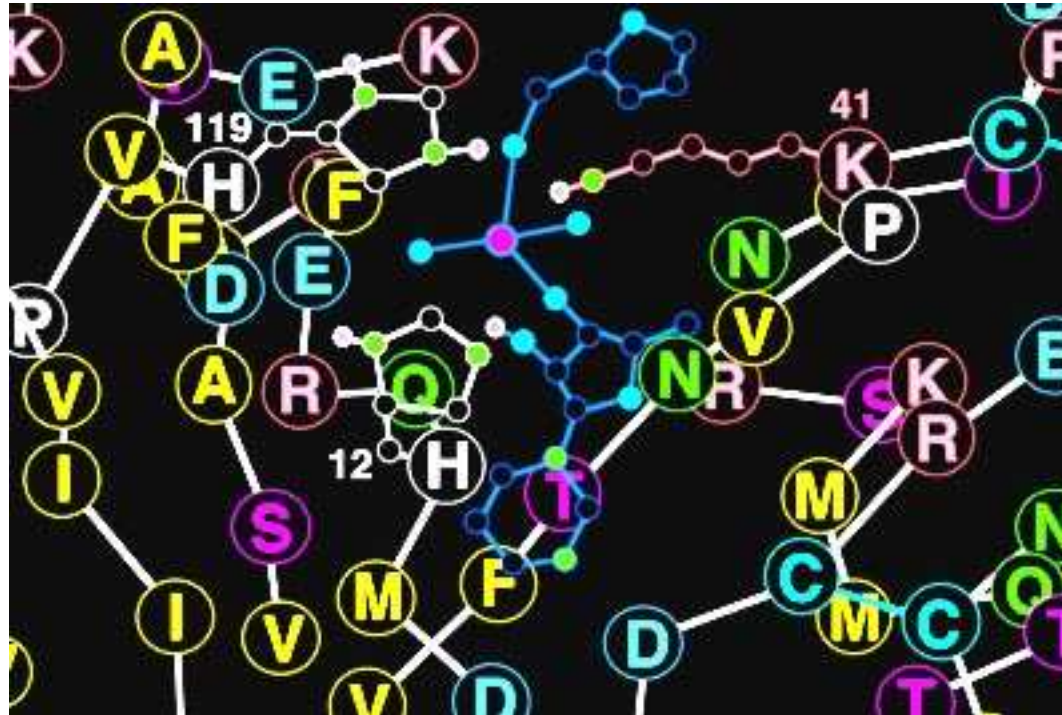
Au niveau d'une certaine région protéique, les AA adoptent des **caractéristiques chimiques spécifiques**. Cette région est appelée **site actif**, où s'effectue la réaction chimique **catalysée** par **une enzyme**.

La ribonucléase



La **ribonucléase** (**RNase**, 124AA) pancréatique est une **endoribonucléase** qui hydrolyse les liaisons **phosphodiesters** des ARN.

Site actif de la ribonucléase



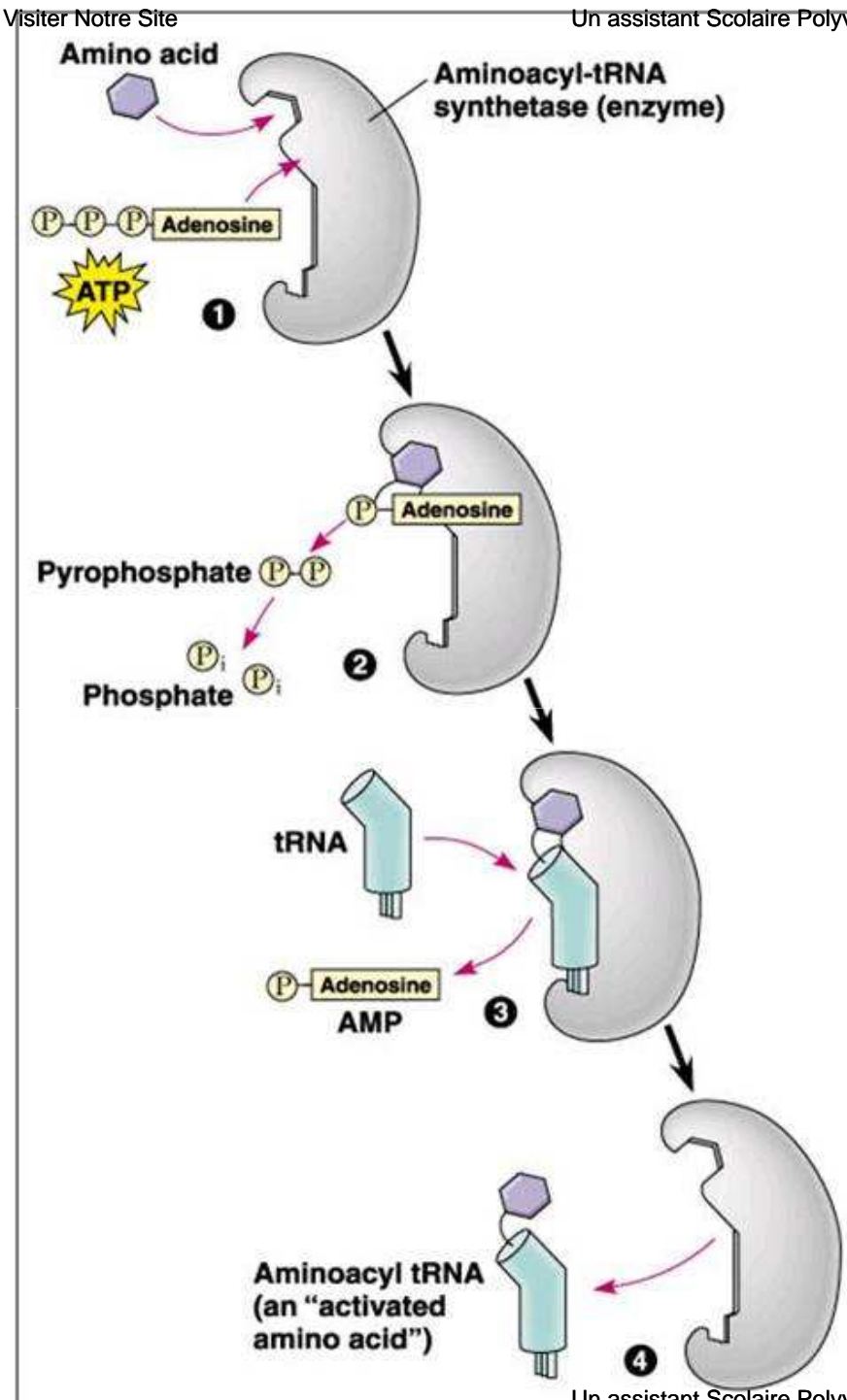
Une vue agrandie du site de fixation du **substrat** (liserés bleus) et des AA du **site catalytique** (liserés blancs) montre la position des deux molécules après la formation du complexe **enzyme-substrat**.

La fixation du phosphate (charge négative, est faite par des liaisons électrostatiques avec des AA chargés positivement (**Lysine 41**, **Histidine 119**).

L'aminoacyl-tRNA synthétase

Il existe plusieurs sortes d'aminoacyl-ARNt synthétase. Chacune de ces enzymes a comme fonction de lier un acide aminé particulier à son ARNt correspondant.

Le site actif de l'enzyme reconnaît un acide aminé et son anticodon particulier. Suite à cette reconnaissance, l'enzyme unit l'acide aminé à l'ARNt.



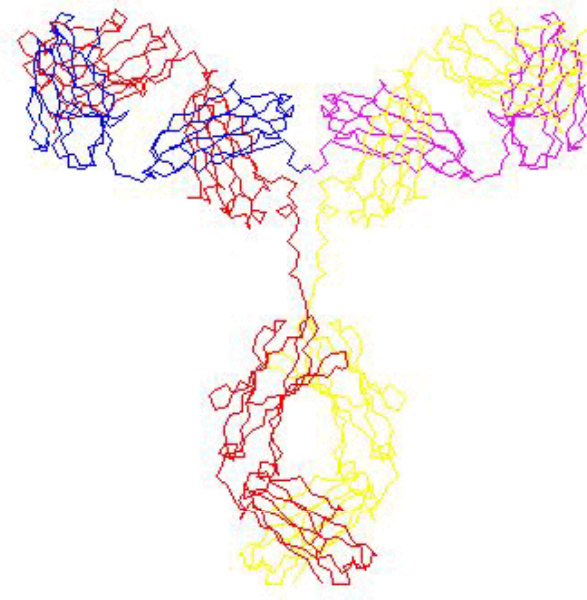
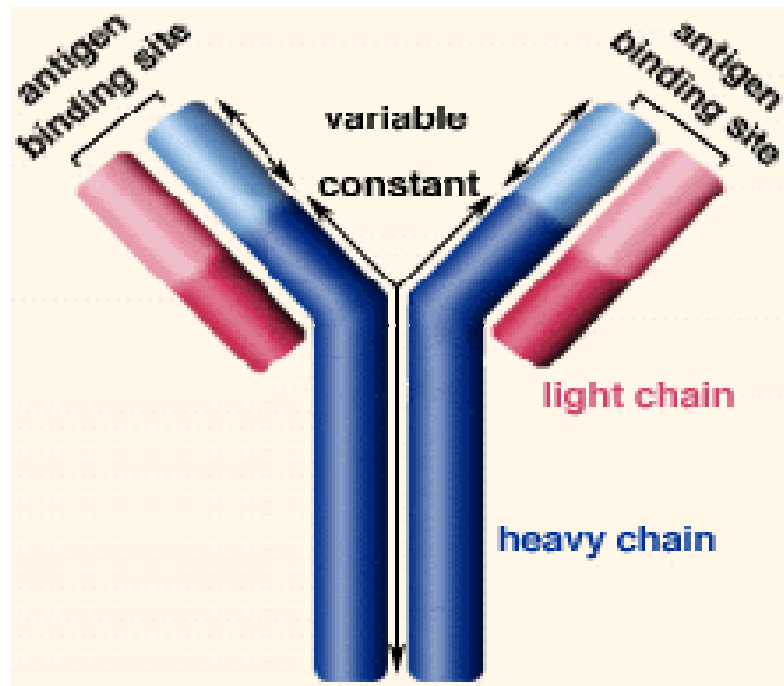
les défenses de l'organisme

Ce sont les Anticorps

Les **anticorps** fabriqués par certains globules blancs ,sont de **grosses protéines** : les **Immunoglobulines**, composées de plusieurs types de sous-unités (chaînes), de masses différentes (**chaînes lourdes**, **chaînes légères**)

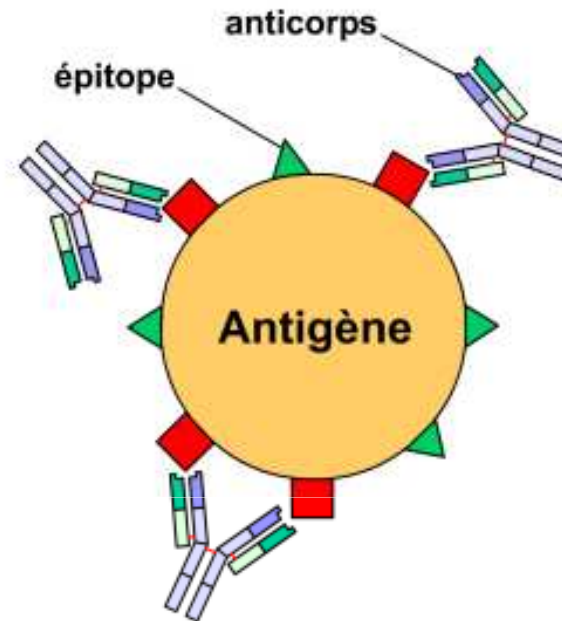
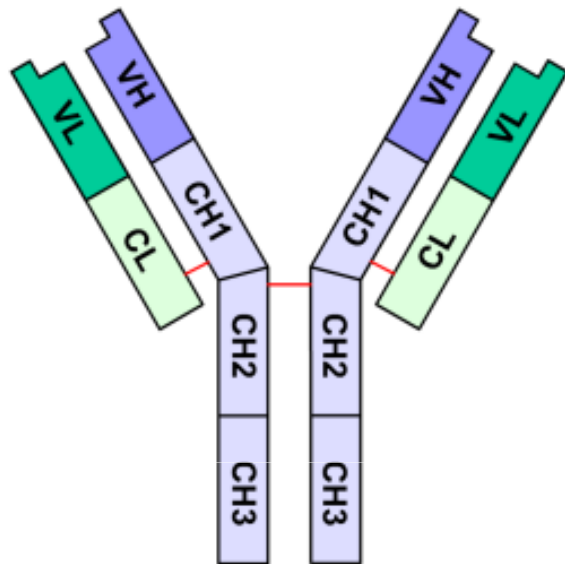
On distingue deux domaines : un du côté **NH₂-terminal**, dit **domaine variable** et un en **COOH-terminal** dit **domaine constant**. Dans chacun de ces domaines se trouvent deux feuillets β unis par un **pont disulfure**.

Structure des Immunoglobulines



**2 chaînes longues (lourdes) et
2 chaînes courtes (légères).**

Les chaînes légères sont formées de **deux domaines** de **110 AA**.
Les chaînes lourdes sont formées de **quatre domaines** de **110 AA**. Dans la boucle formée par le **troisième domaine** existe un oligosaccharide lié à une Asparagine de la chaîne lourde.



Domaines constants

Les domaines constants sont caractérisés par une séquence en acides aminés très proche d'un anticorps à l'autre. Les domaines constants ne sont pas impliqués dans la reconnaissance de l'antigène.

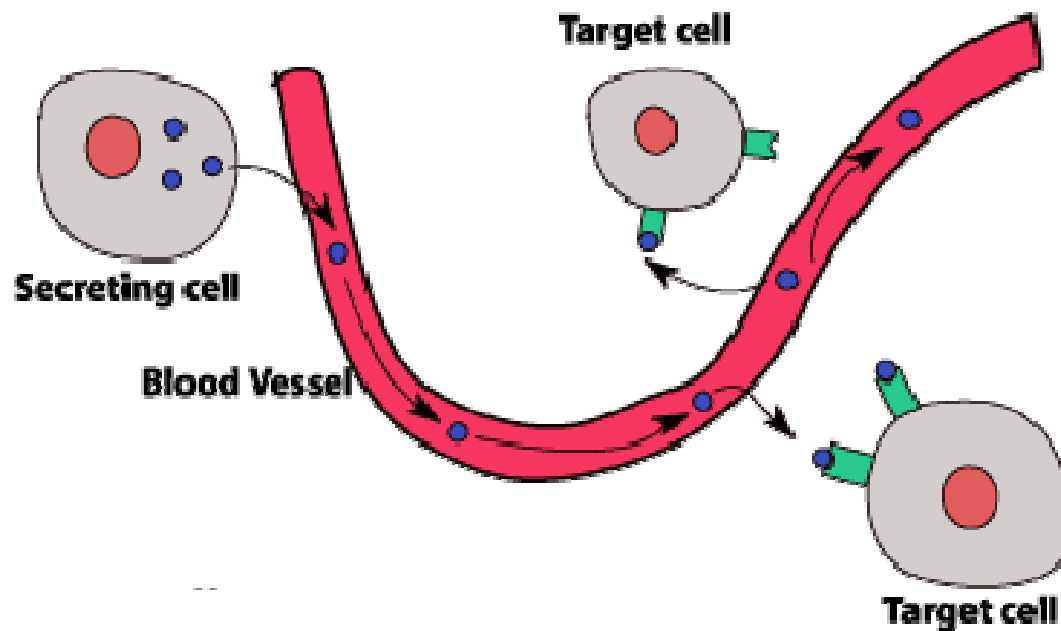
Domaines variables

Une immunoglobuline possède quatre domaines variables situés aux extrémités des deux « bras » et constitue le site de reconnaissance de l'antigène.

Les Hormones

Les Hormones

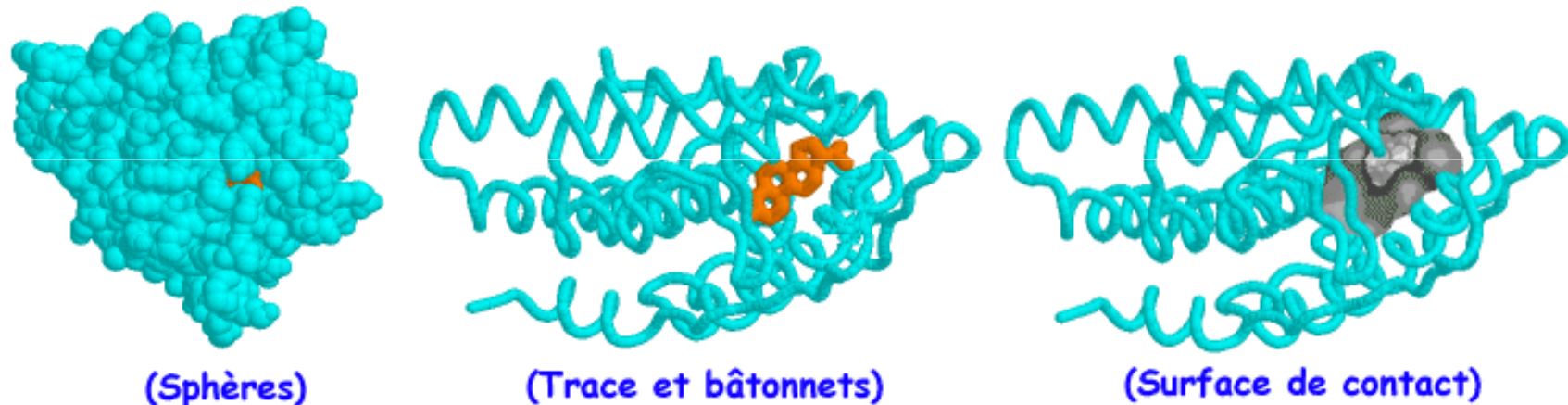
Les hormones protéiques ne peuvent pénétrer à l'intérieur des cellules, elles se fixent sur la membrane au niveau de sites récepteurs spécifiques.



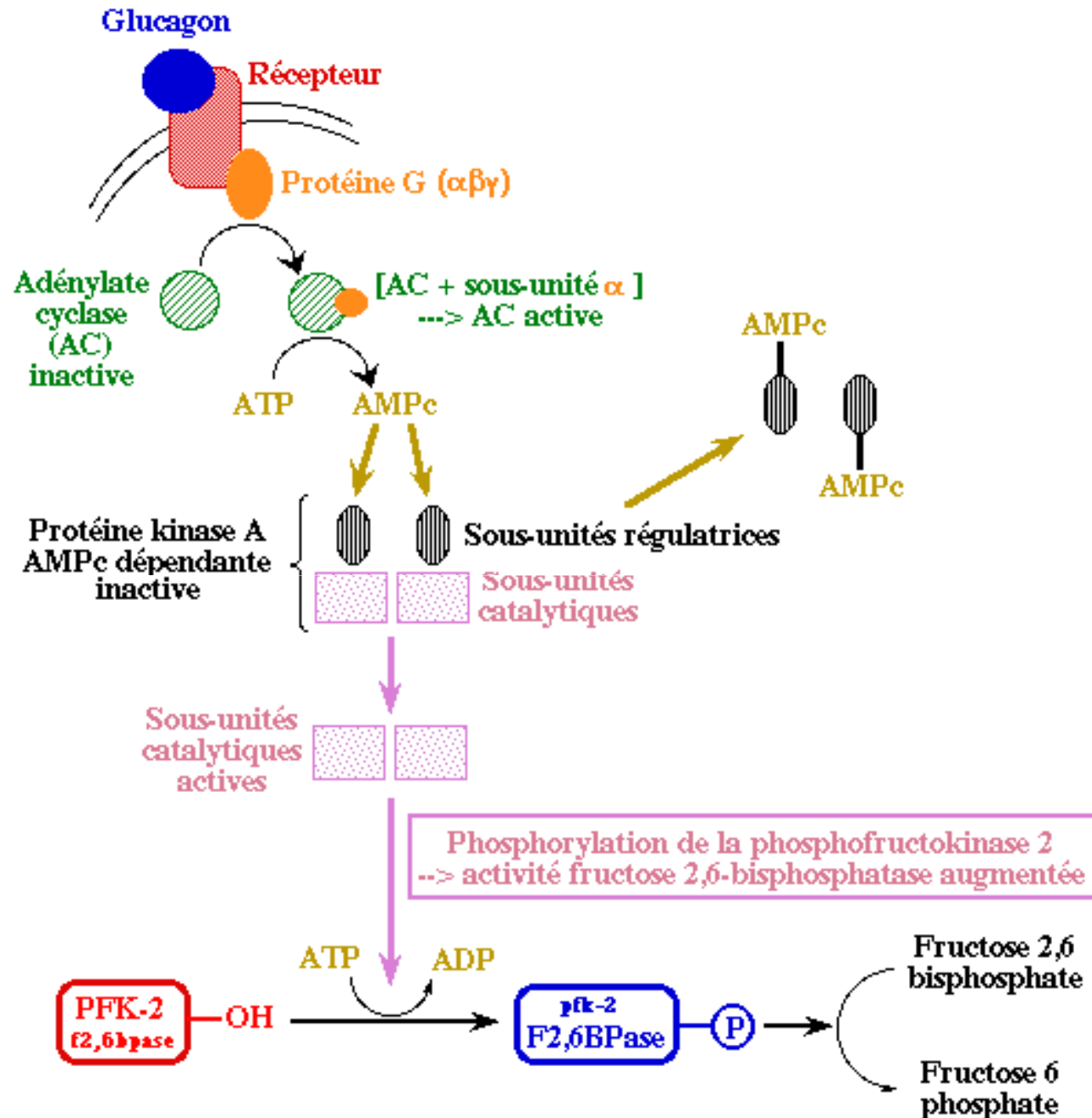
Les cellules réceptrices déclenchent une série de réactions chimiques pour provoquer une réponse donnée.

L'Hormone Lutéinisante, LH

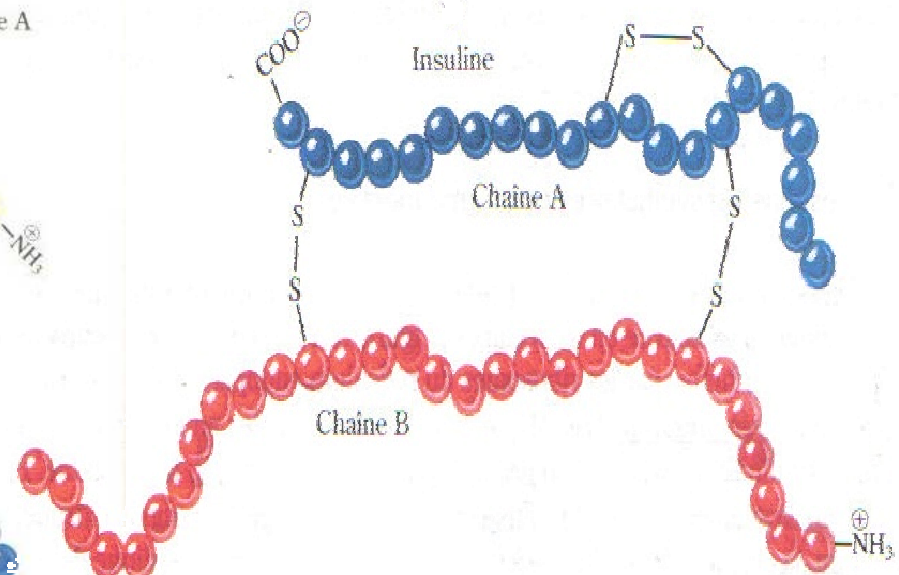
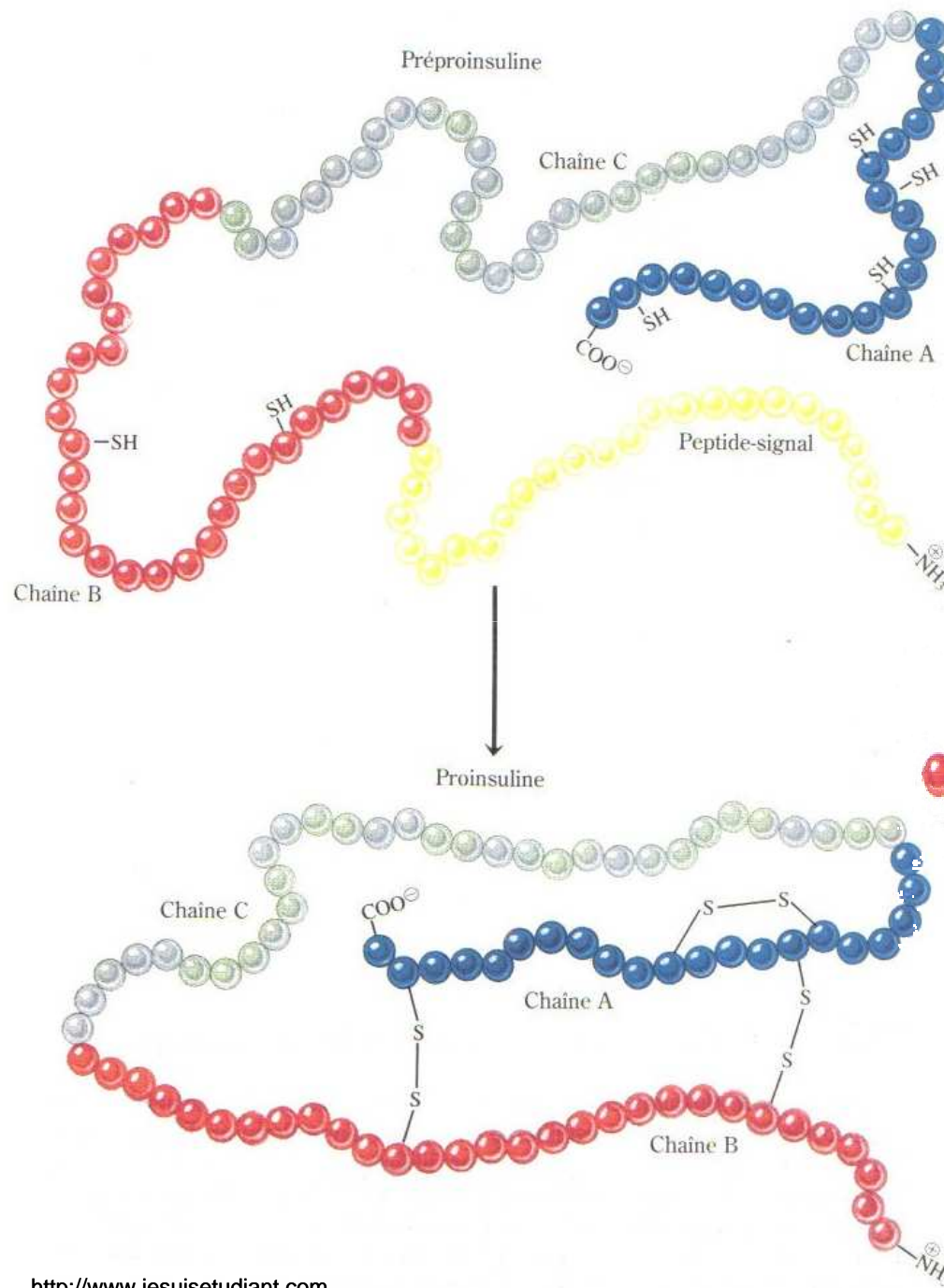
La LH est une **glycoprotéine** d'un PM~30 000 daltons produite par l'hypophyse. C'est une **hétérodimère** car elle est composée de deux SU différentes: α et β . La SU α (89AA) et la SU β (115 AA).



Trois formes de représentation du **récepteur de la LH** et de la **LH** sur son **site de fixation**.



E. Jaspard (2008)



Maturation de l'insuline

Hormone **hypoglycémiante** sécrétée par le pancréas endocrine, elle est formée de 2 chaînes peptidiques: **A (21AA)** et **B (30AA)** liées par deux ponts disulfure .

L'insuline passe dans le sang à travers **l'endothélium** du capillaire et exerce son action au niveau de ses cellules-cibles (hépatocytes, adipocytes et cellules musculaires)

L'action de l'insuline passe par l'activation de certaines enzymes qui catalysent la synthèse du **glycogène** .

Ce phénomène entraîne une augmentation du **glycogène** dans le **foie** (en favorisant la glycogénèse, et en inhibant la glycogénolyse).

CONCLUSION

Les protéines sont les composés organiques les plus complexes et les plus diverses des êtres vivants.

La variabilité de leur structure et la flexibilité de leur conformation permet aux protéines d'assurer les fonctions les plus élaborées et les plus complexes dans l'organisme.

La maturation et l'adressage des protéines est un moyen très sophistiqué qu'utilise la cellule pour acheminer chaque protéine vers sa destination finale.

